UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1960 N° 190

RECHERCHES SUR LES APPLICATIONS de la Chromatographie sur papier DANS L'ÉTUDE DE L'HYDROLYSE DES ALCALOÏDES ESTERS

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

MENTION : PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement en Juin 1960

par

Ginette SESQUE

Ancienne Interne des Hopitaux

Membres du Jury

MM.	VINCENT	Président
	BRUSTIER	Assesseurs
	CAUJOLLE	
	BLANC	
	PITET	Suppléant

IMPRIMERIE DU COMMERCE. 10, rue Croix-Baragnon, TOULOUSE

RECHERCHES SUR LES APPLICATIONS
DE LA CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER
DANS L'ÉTUDE DE L'HYDROLYSE DES ALCALOÏDES ESTERS

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1960 N° 190

RECHERCHES SUR LES APPLICATIONS de la Chromatographie sur papier DANS L'ÉTUDE DE L'HYDROLYSE DES ALCALOÏDES ESTERS

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

MENTION : PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement en Juin 1960

par

Ginette SESQUE

Ancienne Interne des Hopitaux

Membres du Jury

MM.	VINCENT	Président
	BRUSTIER	Assesseurs
	CAUJOLLE	
	BLANC	
	PITET	Suppléant

IMPRIMERIE DU COMMERCE. 10, rue Croix-Baragnon, TOULOUSE

UNIVERSITE DE TOULOUSE

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

TABLEAU DU PERSONNEL

DOYEN	MM. LAZORTHES.
ASSESSEUR	BRUSTIER.
Doyens honoraires	GORSE. CALVET. LEFEBVRE.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. VALLOIS. CLERMONT. DUCUING. — MM. RIBAUT. NANTA. TAPIE.

SECTION MEDECINE

PROFESSEURS

Clinique médicale	MM. MÉRIEL. GADRAT.
Clinique chirurgicale et gynécologie	FABRE (P.).
Clinique chirurgicale et du Cancer	GRIMOUD.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	VIRENQUE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	BAZEX.
Clinique des Maladies de la Tuberculose et Pathologie interne	MOREL.
Clinique des maladies des voies urinaires	N...
Clinique médicale infantile et puériculture	SOREL (R.).
Clinique de neurologie et psychiatrie	RISER.
Clinique obstétricale	GUILHEM.
Clinique Odonto-Stomatolog.	CADENAT (E.)
Clinique ophtalmologique	CALMETTES.
Clinique O.R.L. et de chirurgie maxillo-faciale	CALVET.
Accouchement et obstétricie sociale	PONTONNIER.
Anatomie	LAZORTHES.
Anatomie appliquée	POULHÈS.
Anatomie pathologique	FABRE (J.).
Bactériologie, hygiène, médecine sociale	ANDRIEU.
Chimie biologique	VALDIGUIÉ (P.).
Electroradiologie	MARQUÈS.
Embryologie	BROUSSY.
Histologie	BIMES.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	DARNAUD.
Médecine légale et du Travail	PLANQUES.
Médecine Sociale	BOUNHOURE.
Parasitologie	BOUISSET.
Pathologie Chirurgicale	RIEUNAU.
Pathologie générale et médecine expérimentale	SENDRAIL.
Physico-Chimie	AUVERGNAT.
Physiologie	SOULA.
Physiologie appliquée et Pharmacologie	BAISSET.
Physique biologique et médicale	BUGNARD.
Propédeutique médicale	GÉRAUD.
Thérapeutique	N...

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Anatomie comparée	MM. COULOUMA.
Pathologie médicale	LAPORTE (J.).

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Bactériologie	Mme ENJALBERT.
Physiologie	MM. LAPORTE (Y.).
Chimie médicale	DOUSTE-BLAZY.
Physique médicale	BRU.

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Histologie	MM. PLANEL.
Physiologie	MONTASTRUC.
Anatomie pathologique	BOUISSOU.
Parasitologie	RUFFIÉ (J.).

AGREGES

Pathologie médicale	MM. DARDENNES. MONNIER. RIBAUT. RUFFIE (R.). DELAUDE. CALAZEL.
Pathologie chirurgicale	ANJALBERT. FICAT. PASQUIÉ. SOUQUET.
Médecine légale et Médecine du Travail	GRÈZE-RUEFF.
Ophtalmologie	DÉODATI.
Oto-Rhino-Laryngologie	CLAUX.
Pédiâtrie et puériculture	BARDIER (A.).
Rhumatologie	RUFFIÉ (R.).
Stomatologie	CADENAT (H.).
Urologie	LHEZ.

SECTION PHARMACIE

PROFESSEURS

Chimie analytique, toxicologie et Hygiène Industrielle	MM. BRUSTIER.
Pharmacie	CAUJOLLE.
Histoire naturelle	DELAS.
Matière médicale	VINCENT.
Chimie Pharmaceutique	BLANC.

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Sciences naturelles	Mme DULUCQ-MATHOU.
Pharmacie	M. COUTURIER.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Sciences appliquées et toxicologie	M. BOURBON.
Sciences naturelles	Mlle MEYNIER. ROUX.

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Sciences naturelles	MM. BREUILLAUD.
Sciences physiques	PITET.

PERSONNEL ADMINISTRATIF

Secrétaire principal	M. ROCHE.
Secrétaire	Mme LAFFONT.

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats
(Délibération en date du 12 mai 1891)

A MES PARENTS

à qui je dois tout, en témoignage de mon amour et de ma gratitude infinie.

A MA FAMILLE

A MES AMIS

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548920_0055

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR VINCENT

Professeur de Matière médicale

Les années passées au laboratoire de l'Hôpital, sous votre direction, m'ont apporté l'irremplaçable exemple de la précision scrupuleuse de vos méthodes et le secours constant de votre érudition.

Vous avez bien voulu me confier ce travail, et c'est toujours avec une inlassable indulgence et un soin attentif que vous en avez suivi l'élaboration. Qu'il me soit permis de vous dire, avec toute ma gratitude, ma profonde admiration et mon respectueux attachement.

À NOTRE JURY DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR BRUSTIER

Assesseur du Doyen de la Faculté mixte de Médecine et Pharmacie
Professeur de Toxicologie et Hygiène Industrielle
Commandeur de la Légion d'Honneur

Je suis extrêmemnt sensible à l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail et je vous exprime toute ma déférente gratitude pour la bienveillance dont vous ne vous êtes jamais départi à mon égard.

MONSIEUR LE PROFESSEUR CAUJOLLE

Professeur de Pharmacie
Membre correspondant de l'Académie de Médecine
Inspecteur Principal des Pharmacies
Chevalier de la Légion d'Honneur

Vous m'avez accordé le bénéfice de votre brillant enseignement et m'avez fait le grand honneur d'accepter de juger cette thèse. Qu'il me soit permis de vous exprimer mes remerciements et l'assurance de mon profond respect.

MONSIEUR LE PROFESSEUR BLANC

Professeur de Chimie Pharmaceutique
Pharmacien Chef du Centre Hospitalier Régional de Toulouse
Chevalier de la Légion d'Honneur

En toutes circonstances, vous m'avez toujours efficacement aidée par vos conseils judicieux et vos précieux encouragements. C'est avec une paternelle bonté que vous m'avez accueillie à l'Internat et m'avez patiemment instruite des mystères de la chimie. Je suis très heureuse de pouvoir vous exprimer ma profonde reconnaissance pour l'affectueuse sollicitude et la bienveillante compréhension que vous n'avez cessé de me témoigner.

MONSIEUR LE PROFESSEUR PITET

Maître de Conférences agrégé
Inspecteur des Pharmacies

Il m'est agréable de pouvoir vous remercier de l'accueil bienveillant que vous m'avez toujours réservé et de l'honneur que vous me faites en acceptant de siéger à ce jury de thèse.

A MONSIEUR LE DOCTEUR SEGONZAC

Assistant à la Faculté

Pour l'intérêt que vous m'avez témoigné et la part constante que vous avez prise à ces recherches, je suis heureuse de vous dire ma reconnaissance et ma respectueuse sympathie.

A MON MAÎTRE DE STAGE EN PHARMACIE

MONSIEUR M. LEMETTRE

Docteur en Pharmacie
Chevalier de la Légion d'Honneur

Avec dévouement et compétence, vous avez bien voulu m'initier aux premiers éléments de la Pharmacie, et n'avez cessé de me manifester votre intérêt. Je vous en remercie profondément.

INTRODUCTION

« Dans toutes les sciences, le plus grand nombre d'hommes développe et poursuit les idées d'un petit nombre d'autres », écrivait Claude BERNARD, dans son *Introduction à la Médecine expérimentale.*

Dans ce petit nombre de novateurs, on peut, sans hésitation, inscrire le nom du botaniste russe, TSWETT [46], qui en 1906, appliqua la méthode de l'adsorption de pigments sur diverses poudres et réussit ainsi à séparer des constituants de composition très proche, méthode appelée du nom d' « adsorption chromatographique. »

Beaucoup plus tard, en 1944, une application plus pratique, la chromatographie sur papier, fut développée par CONDSEN, GORDON et MARTIN, et, mise à la portée de tous les laboratoires, révolutionna la chimie analytique, permettant l'isolement de nombreux constituants biologiques.

Méthode simple, sensible, la chromatographie sur papier ne demande que quelques milligrammes de substance pour nous en présenter les constituants, séparés « comme sur une carte de géographie » (LEDERER) [23].

Successivement appliquée à l'étude des composés biologiques, des ions minéraux, des antibiotiques et jusqu'à la recherche toxicologique, elle a ainsi favorisé le développement de la chimie, et de plus en plus, reculent les limites de son utilisation.

En ce qui concerne les alcaloïdes, les applications de cette méthode ont surtout visé à l'analyse des

mélanges complexes naturels, ou à la détermination des critères de pureté des alcaloïdes séparés.

Nous pouvons citer les travaux de Forster, Mac Donald et Jones (1949) [11]; Munier et Machebœuf (1950-1952) [29]; Van Espen [47] Schmidt et Karrer [37]; Carless et Woodhead [5]; Denoel et Jaminet [8]; Stoll et Rueger [43]; Brauniger [2]; Mathis et Duquenois [27]; Buchi et Schumacher [3]; Paris [30]; Resplandy [36], etc...

Trop rares, peut-être, ont été les travaux s'attachant à étudier les altérations subies en cours d'hydrolyse, par les alcaloïdes et les préparations les contenant, problèmes qui intéressent au premier plan le pharmacien chargé de pratiquer les essais des médicaments.

C'est pourquoi, nous avons envisagé d'étudier tout spécialement dans ce travail, les solutions des alcaloïdes à fonction esters, soumises à l'hydrolyse alcaline ménagée.

CHAPITRE PREMIER

Généralités sur la Chromatographie et exposé de la technique utilisée.

En 1952 STRAIN, d'après LEDERER, en a donné cette définition :

« La chromatographie est une technique analytique pour la séparation de substances en solution, dans laquelle la séparation s'effectue par migration différentielle dans un milieu poreux et où la migration est causée par le mouvement d'un solvant. »

La chromatographie de partage sur papier consiste, dans son principe, à plonger par une de ses extrémités, une bande de papier filtre de qualité convenable, dans un récipient contenant un solvant organique saturé d'eau. Près de cette extrémité qui baigne dans le liquide, on a déposé une goutte de la solution qu'on désire étudier. Le papier filtre est considéré comme le support inerte d'une phase aqueuse stationnaire et on explique les séparations observées, comme résultant d'un partage continuel des substances à séparer entre la phase aqueuse stationnaire et le solvant organique, s'élevant le long du papier par capillarité.

Les différentes substances déposées vont ainsi se trouver entraînées, s'éloignant plus ou moins de leur point de départ, en fonction de leur coefficient de partage entre le solvant et l'eau retenue par le papier. Soumis après séchage à l'action des révélateurs appropriés, le chromatogramme laisse apparaître différents spots qui ont été caractérisés par une valeur numéri-

que, le Rf (Rowing flow), qui est en principe une constante se définissant comme le rapport de la hauteur du spot et de la hauteur atteinte par le front du solvant. Ce rapport dépend dans une mesure plus ou moins grande, de la température, de la nature du papier, du solvant, des révélateurs, et il n'est pas très facile d'obtenir des valeurs exactement reproductibles.

On ne peut donc pas le considérer comme suffisamment caractéristique pour permettre l'identification certaine d'une substance. Le Rf donne néanmoins des indications précieuses pour fixer le choix des témoins à mettre en jeu pour une identification plus valable.

Cependant il faut « remarquer que par suite des phénomènes d'entraînement, de solubilisation, de formation de complexes, etc..., le Rf d'une substance en milieu compelxe, n'est pas toujours rigoureusement identique à celui de ce même principe en solution pure ».

Il n'en est pas moins vrai que l'interprétation des chromatogrammes reste souvent difficile et demande, dans ses conclusions, une grande prudence. Mais elle a permis la recherche et l'identification de constituants connus et a souvent contribué à la découverte de substances nouvelles.

Dans ses limites, elle reste une méthode simple et pratique pour le contrôle de l'homogénéité d'une solution et pour la vérification de la constance de sa composition. C'est pourquoi il est extrêmement intéressant de l'appliquer aux essais des médicaments et, dans le cadre de notre étude, aux alcaloïdes esters.

TECHNIQUE

Nous avons utilisé la chromatographie ascendante sur papier à une dimension, avec, comme solvant, le butanol acétique. Cette méthode qui a l'avantage d'être très simple a été préconisée par MUNIER et MACHEBŒUF [29].

I. — MATÉRIEL UTILISÉ.

Le papier à chromatographie.

Nous utilisons le papier Whatman n° 2 découpé en feuilles identiques de dimensions 28 cm sur 32 cm.

Cuve à chromatographie.

Nous nous servons d'une cuve cylindrique de 35 cm de haut et de 19 cm de diamètre, à bord rodés et recouverte d'une plaque de verre. A l'intérieur se trouve une cuve circulaire, plate, de 14 cm de diamètre où l'on place le solvant sous une épaisseur de 1 cm environ.

Cuvettes pour traitement et révélation du papier.

Nous prenons une cuvette de dimensions 30 sur 37 cm type photographie pour baigner le chromatogramme dans le réactif de Draggendorf.

Grande cuve de verre pour exposition aux vapeurs d'iode.

Nous utilisons une cuve de dimensions $32 \times 50 \times 30$ cm hermétiquement close par une plaque de verre et contenant une capsule avec quelques paillettes d'iode.

Source de rayons ultra-violets.

Micro-pipettes.

Elles permettent de faire des prises d'essais de 10 mm^3.

Pipettes ordinaires, tubes à hémolyse.

Ballons de 250 cm³ auxquels s'adapte un réfrigérant à reflux.

Bains-marie - Thermometre.

II. — RÉACTIFS.

1° *Préparation du solvant.*

Nous utilisons, d'après MUNIER et MACHEBŒUF, « la technique dite du minimum d'eau ».

Formule Bα 14 :

n butanol	100 cm³
acide acétique cristallisable	14 cm³
eau distillée..... environ	30 cm³

L'eau distillée est ajoutée, petit à petit, en agitant, au mélange butanol acide acétique, jusqu'à trouble persistant. On laisse reposer et on sépare alors de la couche aqueuse. La quantité d'eau doit être rigoureusement celle nécessaire pour saturer mais sans excès.

2° *Réactif de Draggendorf,* modifié par MUNIER MACHEBŒUF.

SOLUTION MÈRE, obtenue en mélangeant :

Solution A :

sous nitrate de bismuth	0,85 g
eau distillée	40 cm³
acide acétique cristallisable	10 cm³

Solution B :

iodure de potassium	8 g
eau distillée	20 cm³

Solution à utiliser :

solution-mère.....	10 cm³
acide acétique cristallisable	20 cm³
eau distillée	100 cm³

Ce révélateur, très sensible vis-à-vis des alcaloïdes, donne une teinte rouge orangé sur fond jaune.

3° *Vapeurs d'iode.*

Les alcaloïdes comme la plupart des matières azotées, par simple exposition aux vapeurs d'iode, donnent des spots dont la coloration varie du jaune au brun.

La réaction est très sensible, mais la coloration a tendance à disparaître ensuite par exposition prolongée à l'air libre.

4° *Fluorescence.*

Certains composés azotés peuvent être décelés, sur un chromatogramme, sans aucun traitement particulier, par leur fluorescence en lumière de Wood.

III. — Mode opératoire.

Nous avons, de façon générale, pratiqué sur un même papier, la chromatographie de solutions pures d'alcaloïdes-bases ou de leurs sels, d'une part avant toute altération, d'autre part après action de la soude et de la chaleur. C'est ainsi que des prélvements faits avant et après divers temps de chauffage, nous ont permis d'apprécier les modifications survenues au cours de l'hydrolyse alcaline.

Nous avons toujours pratiqué nos expériences dans les mêmes conditions et de la même façon, pour tous les alcaloïdes que nous avons successivement étudiés en tenant compte de la solubilité plus ou moins grande dans l'alcool à 50c.

Nous préparons une solution de l'alcaloïde à 10 ou 20 pour mille dans l'alcool à 50c, soit :

alcaloïde : 80 ou 160 mg
eau distillée : 4 cm^3
alcool absolu : 4 cm^3.

Un premier prélèvement de 0,8 cm^3 de cette solution, va nous permettre d'établir le spot de l'alcaloïde avant hydrolyse. On ajoute alors 0,2 cm^3 avant la mise sur le papier afin d'être dans les mêmes conditions de concentration que pour les prélèvements ultérieurs. Ensuite, on ajoute aux 7,2 cm^3 restant, 1 cm^3 de soude N et on effectue un deuxième prélèvement de 1 cm^3, quinze minutes après l'alcalinisation, le tube restant à la température du laboratoire. On neutralise alors exactement ce prélèvement avec l'acide chlorhydrique N. Cet échantillon servira à observer les modifi-

cations correspondant à l'action de la soude seule, à froid.

La solution restante est placée dans le ballon à réfrigérant à reflux et chauffée dans un bain-marie jusqu'à 60 degrés.

On fait alors une troisième prélèvement de 1 cm^3, qui est neutralisé immédiatement avec de l'acide chlorhydrique N.

Progressivement, le bain-marie est chauffé jusqu'à l'ébullition et on pratique un quatrième prélèvement. De même après 15 minutes d'ébullition, après 1 heure et 2 heures, chaque prélèvement étant neutralisé aussitôt.

C'est ainsi que nous avons en général 7 tubes correspondant le premier à l'alcaloïde intact et chacun des autres à un moment donné de l'hydrolyse.

2° *Chromatographie.*

Sur la feuille de papier à chromatographie nous traçons au crayon à 2 cm du bord inférieur, une ligne droite sur laquelle nous marquons 7 points qui serviront de repères pour l'application des prélèvements.

A la micropipette, nous déposons sur chaque point, une quantité égale de différentes solutions (en général 10 mm^3).

Nous laissons sécher le papier avant de le rouler en cylindre et de le fixer par les bords latéraux avec deux fils, en veillant à ce que les bords ne se touchent pas. Puis nous l'introduisons dans la cuve contenant le solvant. Nous recouvrons la cuve avec la plaque de verre et laissons l'ascension du liquide sur le papier, se faire pendant 8 heures. Le papier est alors retiré et après avoir repéré au crayon le niveau atteint par le solvant, nous le faisons sécher rapidement à l'étuve à 100°.

Les fils qui retenaient le papier sont alors coupés et le chromatogramme est soumis aux différents révélateurs.

3° *Détermination des Rf caractéristiques.*

Nous pouvons ainsi, à l'aide de réactifs appropriés, capables de faire apparaître une coloration ou une fluorescence, localiser les spots correspondant à la position des différents corps sur le chromatogramme.

Nous avons vu que le Rf est déterminé par le rapport entre le déplacement des corps entraînés et le déplacement du front du solvant et nous avons, d'autre part eu soin de noter le niveau où s'est arrêté le liquide.

Il nous reste alors à mesurer exactement, avec une règle graduée la distance comprise entre la ligne sur laquelle ont été déposés les différents échantillons à étudier et celle où s'est arrêté le solvant.

Soit par exemple : 19,2 cm. Toujours en partant de la ligne inférieure, nous mesurons la limite supérieure du spot, soit 16,3 cm et sa limite inférieure soit 13,5 cm. Nous divisons ces deux chiffres respectivement par 19,2 et nous faisons la moyenne des quotients obtenus.

Soit, dans cet exemple :

$$\frac{16,3}{19,2} = 0,84 \qquad \frac{13,5}{19,2} = 0,70$$

$$Rf = \frac{0,84 + 0,70}{2} = 0,77$$

Nous remercions MM. les Directeurs des laboratoires Boyer, Roques, Roussel, Amido, Servier, Labatec, Fluka et M. le Docteur Raymond Hamet, qui ont bien voulu nous fournir les alcaloïdes nécessaires à notre travail.

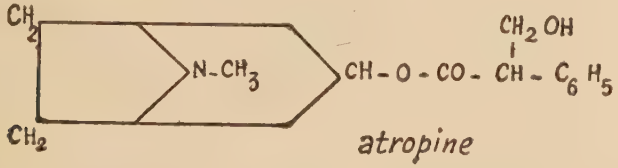
CHAPITRE II

Alcaloïdes du Groupe de l'Atropine.

I. — Définition et formules.

Nous allons étudier successivement : l'atropine, l'hyoscyamine, la scopolamine, l'apoatropine, l'homatropine (1).

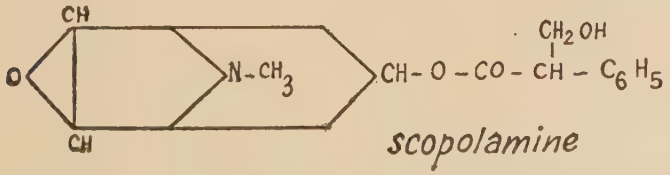
L'atropine est l'ester du tropanol et de l'acide tropique racémique :



atropine

L'hyoscyamine, isomère de l'atropine, est l'ester du tropanol et de l'acide tropique gauche. C'est elle que l'on trouve dans la Belladone et on admet qu'au cours de l'extraction, il y a racémisation et obtention finale d'atropine.

La scopolamine est l'ester de l'acide tropique gauche et du scopanol, oxyde du tropanol. On peut la considérer comme possédant une fonction éther oxyde.

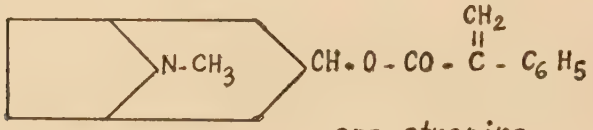


scopolamine

(1) Alcaloïdes obligeamment fournis par les laboratoires Boyer et Roques (Paris).

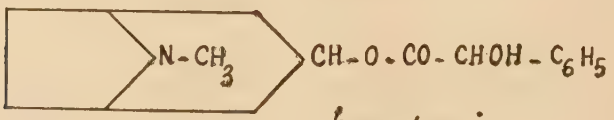
De même que l'hyoscjamine se racémise en donnant de l'atropine, la scopolamine gauche, en présence de soude, s'isomérise en scopolamine inactive ou atroscine.

L'apoatropine ou *atropamine* est l'ester du tropanol et de l'acide atropique. Ce dernier dérive de l'acide tropique par déshydratation, la fonction alcool primaire a disparu et a fait place à un chainon $= CH_2$.



apo-atropine

L'homatropine est un alcaloïde de synthèse possédant des propriétés semblables à celles de l'atropine, mais elle est moins active et moins toxique. C'est l'ester du tropanol et de l'acide phényl glycolique.



homatropine

D'une façon générale, les solutions d'alcaloïdes atropiniques sont facilement hydrolysées et de nombreux auteurs ont remarqué et étudié ces altérations. L'hydrolyse de l'atropine sous l'action de l'eau seule fut mise en évidence d'abord par Gadamer [19]. Mais cette action hydrolysante s'accentue avec l'élévation de température surtout en milieu sodique et Hardy [20] a montré que, si à la température ordinaire, il faut trois jours pour que l'hydrolyse atteigne 81,4 %, une heure d'ébullition suffit pour qu'elle soit de 90,6 %. Par contre, elle est stable en solution alcoolique à pH = 5, même à la température de 80°.

II. — Résultats personnels.

1) *Détermination des Rf.*

Voici les Rf des spots obtenus dans nos conditions expérimentales :

	Rf		Rf
Atropine	0,61	Apoatropine	0,72
Hyoscyamine	0,61	Homatropine	0,57
Scopolamine	0,50	Tropanol.	0,33

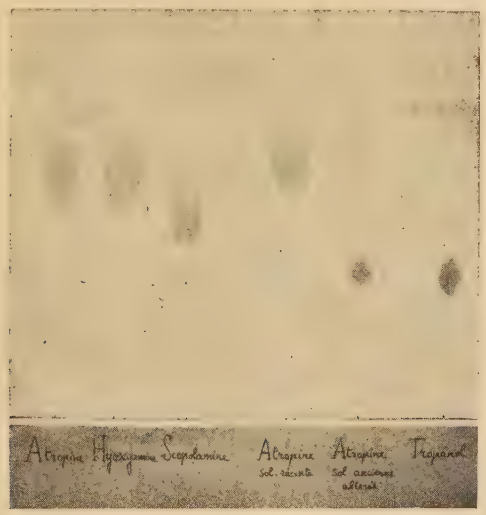


Figure 1. — Chromatogramme en butanol-acétique. Révélation au réactif de Draggendorf.

2) *Etude de l'hydrolyse de ces alcaloïdes.*

a) *Atropine base.*

Nous avons fait une solution d'atropine base à 10 pour mille dans l'alcool à 50° pour étudier les divers temps de l'hydrolyse.

1. - Sous l'action de la chaleur seule

Nous avons soumis cette solution à l'action croissante de la température. Des prélèvements faits, après chauffage progressif, jusqu'à 60° puis à 100°, puis

après 15 minutes, une heure et deux heures d'ébullition, nous montrent que l'hydrolyse est lente à se produire. En effet, après 15 minutes d'ébullition, nous pouvons déceler à l'iode et, encore très faiblement, le spot du tropanol qui se précise après une heure de chauffage et devient très net deux heures après.

2. - Sous l'action de la soude à froid

A 8 cm³ de solution d'atropine base dans l'alcool à 35°, nous ajoutons 1 cm³ de soude N. Nous constatons alors, dans ces conditions, les résultats suivants :

— *7 heures* après l'addition de soude, l'hydrolyse est importante. Le chromatogramme nous donne trois spots (Rf = 0,10 — 0,33 — 0,61) et nous reconnaissons après action du réactif de Draggendorff la teinte mauve et le Rf caractéristique du tropanol.

— *24 heures* après l'addition de soude, à la température du laboratoire, nous ne retrouvons plus que les deux spots en présence (Rf = 0,10 — 0,33).

— *12 jours* après, nous ne constatons aucune modification par rapport au chromatogramme précédent.

3. - Sous l'action de la soude avec chauffage progressif

Nous avons ensuite pratiqué la saponification de l'atropine en chauffant progressivement la solution additionnée de soude.

Rf des spots obtenus en cours d'hydrolyse en milieu sodique (1)

Avant hydrolyse			*0,61*	
Contact de 15 minutes à froid..	0,10	0,33	*0,61*	
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,10	0,33	*0,61*	
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,10	*0,33*	0,61	*0,72*
Contact de 15 minutes à 100°	0,10	*0,33*	0,61	*0,72*
Contact d'une heure à 100°....	0,10	*0,33*		
Contact de deux heures à 100°	0,10	*0,33*		

(1) Dans ces tableaux, et de même tout au long de cette étude, les spots intensément colorés sont indiqués en italiques.

Nous constatons donc que l'hydrolyse est déjà sensible dès l'addition de soude puisque nous distinguons, quoique très faiblement, et sous l'action des vapeurs d'iode seulement, le spot du tropanol et celui, très bas et très faible, de l'acide tropique. Par contre, à 100°, le spot du tropanol est devenu plus net et décelable par le réactif de Draggendorff.

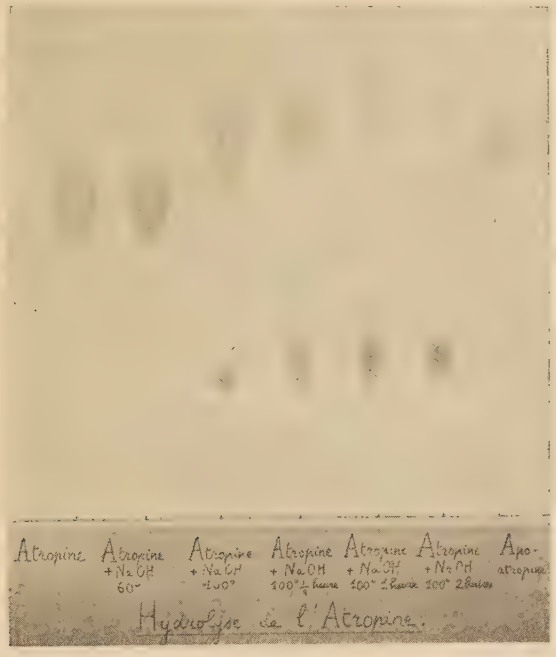


FIGURE 2. — Hydrolyse de l'atropine. Chromatographie en butanol-acétique. Révélation au réactif de Draggendorf. A droite, l'apoatropine a été ajoutée à titre de référence.

Il apparaît aussi un spot supérieur de Rf = 0,72. Après 15 minutes d'ébullition, on constate que, sur le chromatogramme, le spot du tropanol est devenu plus visible mais que persistent encore les trois spots signalés précédemment.

Après une heure d'ébullition, le spot du tropanol s'intensifie tandis que le spot supérieur s'atténue pour disparaître après deux heures d'ébullition.

Discussion de ces résultats

Nous avons observé, au cours de l'hydrolyse alcaline à chaud, l'apparition d'un dérivé intermédiaire, Rf = 0,72, alors que dans le cas de l'hydrolyse lente, à la température ordinaire, nous ne voyons apparaître que les spots de l'atropine, du tropanol, et on peut aussi déceler, par l'action des vapeurs d'iode celui à peine marqué de l'acide tropique. Il est possible que, dans ce cas, le dérivé intermédiaire, s'il se forme, n'atteigne pas une concentration suffisante pour être décelable, tandis que sa formation est proportionnellement beaucoup plus importante lorsque la vitesse de réaction d'hydrolyse est accélérée par le chauffage en milieu alcalin.

Il semble donc, que lors de l'hydrolyse alcaline ménagée de l'atropine, il se forme un dérivé alcaloïdique intermédiaire. Son spot, de Rf = 0,72, paraît indiquer qu'il s'agit de l'apcatropine. Des recherches complémentaires en cours effectuées par la méthode spectrographique dans le laboratoire de M. le Professeur Brustier paraissent effectivement confirmer cette interprétation. On peut supposer alors qu'une déshydratation préalable se produirait sur la fonction alcool de l'acide tropique avant même la rupture de la liaison ester de la molécule.

b) *Hyoscyamine.*

Rf des spots obtenus en cours d'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse			*0,61*	
Contact de 15 minutes à froid..	0,10	0,33	*0,61*	
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,10	0,33	*0,61*	
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,10	0,33	*0,61*	*0,72*
Contact de 15 minutes à 100°	0,10	*0,33*	0,61	*0,72*
Contact d'une heure à 100°....	0,10	*0,33*	0,61	
Contact de deux heures à 100°	0,10	*0,33*		

Nous avons trouvé dans le cas de l'hyoscyamine des résultats absolument semblables à ceux constatés avec l'atropine : de même ici, un spot supplémentaire apparaît dès l'ébullition en milieu sodique.

c) *Scopolamine.*

Rf des spots obtenus en cours d'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse			*0,50*	
Contact de 15 minutes à froid	0,10	0,22	*0,50*	
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,10	0,22	*0,50*	
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,10	*0,22*	0,50	*0,60*
Contact de 15 minutes à 100°..	0,10	0,22	*0,50*	*0,60*
Contact d'une heure à 100°....	0,10	*0,22*		
Contact de deux heures à 100°..	0,10	0,22		

Le spot initial est sensiblement plus bas que celui de l'atropine. Cependant, son hydrolyse alcaline permet d'observer un spot plus élevé Rf = 0,60, correspondant vraisemblablement au dérivé analogue à l'apoatropine (apo-scopolamine), et un spot inférieur (Rf = 0,22) qui est celui du scopanol.

d) *Apoatropine* ou *atropamine.*

Rf des spots obtenus en cours d'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse			*0,72*
Contact de 15 minutes à froid..	0,10	0,33	*0,72*
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,10	0,33	*0,72*
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,10	0,33	*0,72*
Contact de 15 minutes à 100°..	0,10	*0,33*	*0,72*
Contact d'une heure à 100°....	0,10	*0,33*	
Contact de deux heures à 100°..	0,10	*0,33*	

Le chromatogramme obtenu est assez différent de celui de l'atropine. En effet, si dès l'ébullition l'atropine est détruite, l'apoatropine paraît plus stable et ce n'est qu'après 15 minutes d'ébullition que le spot du tropanol est décelable sans qu'on puisse observer de spot intermédiaire. Ceci nous paraît être une raison de plus de penser que c'est bien de l'apoatropine qui se forme progressivement lors de l'hydrolyse de l'atropine, puisque aucun spot supérieur surnuméraire ne se produit dans le cas de l'hydrolyse de l'apoatropine.

e) *Homatropine.*

Rf des spots obtenus en cours d'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse			*0,57*
Contact de 15 minutes à froid..	0,11	0,33	*0,57*
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,11	0,33	*0,57*
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,11	*0,33*	
Contact de 15 minutes à 100°..	0,11	*0,33*	
Contact de une heure à 100°..	0,11	*0,33*	
Contact de deux heures à 100°	0,11	*0,33*	

L'hydrolyse alcaline laisse apparaître le spot du tropanol au fur et à mesure de la disparition de l'alcaloïde, sans qu'un spot de substance intermédiaire analogue à l'apoatropine ait été décelable.

Génalcaloïdes du groupe de l'Atropine.

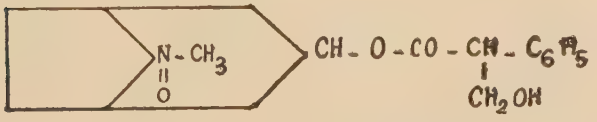
En 1913, Polonovski et Nitzberg [34] isolèrent de la fève de Calabar un nouvel alcaloïde et montrèrent que ce produit, d'ailleurs obtenu aussi par action de l'eau oxygénée sur l'ésérine, en est le N oxyde.

Le nom de « génésérine » fut donné à cet alcaloïde parce qu'il est susceptible d'engendrer l'ésérine par réduction.

C'est ainsi qu'on appela « génalcaloïdes », des composés alcaloïdes N oxydes, de toxicité plus faible que celle des alcaloïdes dont ils dérivent, tout en conservant des propriétés pharmacologiques semblables.

Il y a formation d'une fonction amino oxyde $R \overset{\rightarrow}{=} N = O$. Sur les alcaloïdes atropiniques on obtient, la génatropine, la génhyoscyamine et la génoscopolamine. Nous avons jugé intéressant d'en faire l'étude parallèlement à celle effectuée sur les alcaloïdes dont elles dérivent.

Voici la formule de la génatropine :



génatropine

Détermination de leurs Rf caractéristiques.

Chlorydrate de génatropine	Rf = 0,65
Chlorydrate de génhyoscyamine	0,69
Bromhydrate de génoscopolamine	0,50

Nous constatons que la génatropine et la génhyoscyamine migrent sensiblement plus haut que les alcaloï-

des correspondants (Rf = 0,65 au lieu de 0,61) alors que scopolamine et génoscopolamine nous donnent des spots de Rf sensiblement identiques (0,50).

ETUDE DE L'HYDROLYSE ALCALINE MÉNAGÉE DES GÉNALCALOÏDES ATROPINIQUES (1).

a) *Génatropine.*

Rf des spots obtenus en cours d'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse			*0,65*
Contact de 15 minutes à froid..	0,10	*0,42*	*0,65*
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,10	*0,42*	*0,65*
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,10	*0,42*	0,65
Contact de 15 minutes à 100°..	0,10	*0,42*	
Contact de une heure à 100°..	0,10	*0,42*	
Contact de deux heures à 100°	0,10	*0,42*	

Nous pouvons constater que la génatropine est plus rapidement hydrolysée que l'atropine. En effet, dès le contact avec la soude, l'hydrolyse est considérable sans que puisse être mis en évidence le dérivé intermédiaire apparu dans l'hydrolyse de l'atropine.

Le chromatogramme nous donne 3 spots. Le spot supérieur, faiblement marqué dès que l'hydrolyse se précise, est celui du génalcaloïde en solution. Le spot de Rf = 0,42, qui est certainement celui du génotropanol est difficile à déceler par le réactif de Draggendorff et il faut avoir recours aux vapeurs d'iode pour le mettre en évidence. Peut-être donne-t-il un dérivé soluble dans ce réactif contrairement au tropanol qui prend une teinte mauve bien caractéristique. Le spot inférieur n'est visible qu'aux vapeurs d'iode; il correspond sans doute à l'acide tropique, comme nous l'avons montré à propos de l'hydrolysé de l'atropine.

(1) Génalcaloïdes obligeamment fournis par les laboratoires AMIDO (Paris).

b) *Génohyoscyamine.*

Rf des spots obtenus en cours d'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse			*0,69*
Contact de 15 minutes à froid..	0,10	*0,42*	*0,69*
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,10	*0,42*	0,69
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,10	*0,42*	
Contact de 15 minutes à 100°..	0,10	*0,42*	
Contact de une heure à 100°..	0,10	*0,42*	
Contact de deux heures à 100°..	0,10	*0,42*	

Le chromatogramme obtenu ne diffère donc pas de celui de la génatropine, si ce n'est, peut-être, que cet alcaloïde paraît un peu moins vite hydrolysé.

Dès l'addition de soude en effet, l'hydrolyse est importante et à 100° l'hydrolyse est totale et nous ne trouvons plus que le spot du génotropanol et de l'acide tropique qui ne sont d'ailleurs décelables l'un et l'autre, qu'aux vapeurs d'iode. Il n'apparaît pas de dérivé intermédiaire.

c) *Génoscopolamine.*

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse			*0,50*
Contact de 15 minutes à froid..	0,12	0,36	
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,12	0,36	
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,12	0,36	
Contact de 15 minutes à 100°..	0,12	0,36	
Contact d'une heure à 100°....	0,12	0,36	
Contact de deux heures à 100°..	0,12	0,36	

Dans le cas de la génoscopolamine, dès l'addition de soude, l'alcaloïde est rapidement détruit en 15 minutes à froid. La génoscopolamine apparaît donc comme très labile et facilement hydrolysable. On observe que le spot dû au génoscopanol est légèrement plus bas que celui du génotropanol (Rf = 0,36 au lieu de 0,42).

Discussion de ces résultats

D'une façon générale, nous pouvons constater que les génalcaloïdes ont une labilité plus grande que les alcaloïdes correspondants. Leur hydrolyse alcaline apparaît beaucoup plus rapide et, dans les conditions où nous avons opéré, elle est déjà pratiquement totale dès 60°. On ne met pas en évidence, sans doute à cause de la rapidité de cette hydrolyse, de dérivé intermédiaire de Rf élevé, analogue à celui observé dans le cas de l'atropine.

S'il se forme, son apparition est peut être trop fugace pour être saisie. On observe aussi que le spot du génotropanol (Rf = 0,42) qui est sensiblement plus haut que celui du tropanol (Rf = 0,33), n'est guère décelable par le réactif de Draggendorff, alors qu'il est très net et fortement coloré par les vapeurs d'iode.

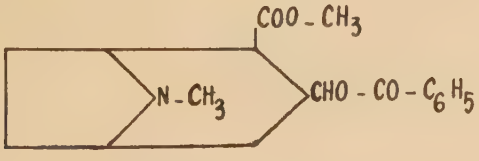
CHAPITRE III

Alcaloïdes du Groupe de la Cocaïne

A) Définition et formule des alcaloïdes de ce groupe.

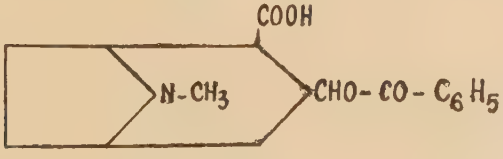
Dans ce groupe, nous allons étudier les alcaloïdes suivants (1) : cocaïne, benzoylecgonine, tropacocaïne, et un dérivé de synthèse, la delcaïne.

La cocaïne, alcaloïde d'*Erythroxylon Coca*, est l'ester benzoïque et méthylique de l'ecgonine (acide tropanol carbonique). Elle possède donc deux fonctions ester.



cocaïne

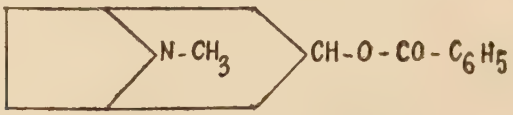
La benzoylecgonine dérive de la cocaïne par perte de la fonction ester méthylique.



benzoyl ecgonine

(1) Alcaloïdes obligeamment fournis par les laboratoires Roques (Paris).

La tropacocaïne est l'ester benzoïque du pseudo-tropanol.



tropacocaïne

La delcaïne est l'isomère de la cocaïne; c'est la pseudo cocaïne droite préparée par synthèse (même formule). « Les dérivés de la pseudo cocaïne droite sont doués de propriétés anesthésiques plus marquées que leurs isomères et la forme droite est moins toxique que la forme gauche » (Lebeau et Courtois).

B) Résultats personnels.

1. — *Détermination des* Rf *de ces alcaloïdes.*

Nous avons pratiqué la chromatographie de ces alcaloïdes en solution à 20 p. 1.000 dans l'alcool à 50°, ainsi d'ailleurs que celle de l'ecgonine et de l'acide benzoïque, afin d'en déterminer les Rf et de contrôler ainsi les résultats de l'hydrolyse :

	Rf		Rf
Cocaïne	0,70	Delcaïne	0,73
Benzoylecgonine . .	0,70	Ecgonine	0,22
Tropacocaïne	0,72	Acide benzoïque. . .	0,11
		(visible à l'iode seulement)	

2. — *Etude de l'hydrolyse de ces alcaloïdes.*

a) *Cocaïne.*

On sait que la cocaïne est relativement peu stable et que sa solution aqueuse est facilement altérable à l'ébullition et dans les récipients en verre à réaction alcaline. L'hydrolyse s'accompagne de la perte du

pouvoir anesthésique, d'où l'intérêt du maintient de l'intégrité de ses solutions et de leur contrôle, par chromatographie.

L'hydrolyse alcaline est effectuée dans les mêmes conditions que dans le cas de l'atropine.

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse				*0,70*
Contact de 15 minutes à froid..	0,11		*0,35*	*0,70*
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,11	0,22	*0,35*	*0,70*
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,11	*0,22*		
15 minutes à 100°	0,11	*0,22*		
Une heure à 100°	0,11	*0,22*		
Deux heures à 100°.....	0,11	*0,22*		

Dès l'addition de soude, l'hydrolyse est déjà importante. Nous trouvons 3 spots : le spot supérieur (Rf = 0,70) qui est celui de la cocaïne, le spot inférieur (Rf = 0,11) visible à l'iode seulement qui est sans doute celui de l'acide benzoïque et qui est alors assez faiblement marqué et enfin un spot médian (Rf = 0,35) déjà très net. Dès 60°, le spot supérieur s'atténue alors que le spot médian s'intensifie et qu'apparaît un quatrième spot (Rf = 0,22) qui est celui de l'ecgonine, à peine perceptible.

A 100°, l'hydrolyse est totale et le spot médian a disparu ainsi que le spot supérieur alors que celui de l'ecgonine se précise de plus en plus. L'augmentation du temps de chauffe ne modifie plus le chromatogramme et seuls restent en présence le spot de l'acide benzoïque et celui de l'ecgonine.

Discussion de ces résultats

L'hydrolyse de la cocaïne en milieu alcalin apparaît comme très rapide. Elle est déjà considérable sous l'action de la soude à froid. On peut reconnaître les spots de l'ecgonine et de l'acide benzoïque mais il apparaît aussi un composé dont le spot est de Rf = 0,35 qui

précède l'apparition du spot de l'ecgonine et disparaît dès que celui-ci est bien distinct. Ce composé n'a pas été identifié. Il est probable qu'il s'agit de l'ecgoninate de méthyle résultant de la saponification partielle de la cocaïne.

ecgoninate de méthyle *ecgonine*

b) *Benzoylecgonine.*

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse			*0,70*
Contact de 15 minutes à froid..	0,11	*0,22*	*0,70*
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,11	*0,22*	*0,70*
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,11	*0,22*	
Contact de 15 minutes à 100°..	0,11	*0,22*	
Contact d'une heure à 100°....	0,11	*0,22*	
Contact de deux heures à 100°	0,11	*0,22*	

Dans l'hydrolyse alcaline de cet alcaloïde, le spot de l'ecgonine apparaît dès l'addition de soude. Dès l'ébullition, l'hydrolyse est totale de même que pour les alcaloïdes précédents. Aucun spot intermédiaire n'a été décelable dans cet essai.

c) *Tropacocaïne.*

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse			*0,72*
Contact de 15 minutes à froid..	0,11	*0,30*	*0,72*

Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,11	*0,30*	*0,72*
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,11	*0,30*	
Contact de 15 minutes à 100°..	0,11	0,30	
Contact de une heure à 100°....	0,11	0,30	
Contact de deux heures à 100°..	0,11	0,30	

Dès l'addition de soude nous voyons apparaître trois spots : l'un, Rf = 0,11, faible, visible seulement à l'iode, est celui de l'acide benzoïque; l'autre, Rf = 0,30, s'intensifiant à mesure que le spot de l'alcaloïde pur disparaît (Rf = 0,72) est sans doute, le spot du pseudo tropanol. A 100°, l'hydrolyse est totale.

d) *Delcaïne.*

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse			*0,73*
Contact de 15 minutes à froid..	0,11	0,22	*0,73*
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,11	*0,22*	*0,73*
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,11	*0,22*	
Contact de 15 minutes à 100°..	0,11	*0,22*	
Contact d'une heure à 100°....	0,11	*0,22*	
Contact de deux heures à 100°..	0,11	*0,22*	

Les résultats obtenus sont semblables à ceux observés dans le cas de la cocaïne. On constate que l'hydrolyse partielle sous l'action de la soude à froid, s'intensifie à 60° pour n'être totale qu'à 100°. Le dérivé intermédiaire (Rf = 0,35) n'a pu être décelé.

CHAPITRE IV

Alcaloïdes du Groupe de l'Aconitine

I. — Définition et formules des alcaloïdes de ce groupe.

Les divers aconits renferment de nombreux alcaloïdes dont la constitution est loin d'être parfaitement connue. Ces alcaloïdes ont la propriété commune de donner à l'hydrolyse des bases, les aconines, différentes selon l'aconitine considérée, des acides organiques, l'acide acétique avec l'acide benzoïque ou l'acide vératrique. D'après la nature des acides formés au cours de l'hydrolyse on les classe, d'une façon générale, en deux groupes :

1° Groupe des aconitines, qui libèrent de l'acide benzoïque :

aconitine,
néopelline,
benzoylaconine ou picraconitine,
japaconitine,
indaconitine.

2° Groupe des pseudo aconitines, qui libèrent de l'acide vératrique :

pseudo aconitine,
bikhaconitine.

Ces alcaloïdes sont donc des esters de l'aconine, existant le plus souvent dans la plante, liés à l'acide aconitique. Nous envisagerons seulement le cas de l'aconitine, de la pseudo aconitine qui constituent les

deux types principaux et celui de la delphinine, alcaloïde de *Delphinium Staphysagria,* dont la formule est voisine de celle de l'aconine. Certains auteurs pensent en effet que « ces deux alcaloïdes doivent dériver de la même base fondamentale » (J. Golse) [16].

L'aconitine est l'acétyl benzoyl aconine. A l'hydrolyse, elle donne : acide acétique, acide benzoïque et aconine.

La pseudo aconitine est l'acétyl vératroyl pseudo aconine. A l'hydrolyse, elle donne : acide acétique, acide vératrique, et pseudo aconine. Elle existe à côté de l'aconitine dans l'Aconit Napel et est encore plus toxique que celle-ci, d'où l'intérêt de son identification.

La delphinine libère aussi à l'hydrolyse de l'acide acétique et de l'acide benzoïque et il reste un composé amorphe nommé delphonine, dont le spectre aux ultra violets et les constantes de dissociation sont semblables à ceux de l'aconine.

II. — Résultats personnels.

A) *Détermination des* Rf *des alcaloïdes de ce groupe.*

Afin de déterminer le Rf des alcaloïdes de ce groupe, ainsi que ceux de leurs produits d'hydrolyse, benzoylaconine et aconine, nous avons préparé ces deux produits à partir de l'aconitine en suivant la méthode indiquée par Mathis et Duquenois [27].

Technique

Chauffer 12 heures à reflux 10 mg d'aconitine avec 10 cm3 d'eau, au bain-marie bouillant. Séparer l'aconitine non dissoute par filtration si nécessaire. Concentrer la solution, alcaliniser par l'ammoniaque et épuiser par l'éther à plusieurs reprises. L'ammoniaque déplace la benzoylaconine base (soluble dans l'éther, insoluble dans l'eau) qui passe dans la couche éthérée tandis que l'aconine (soluble dans l'eau, peu soluble dans l'éther) reste dans la phase aqueuse.

Décanter et évaporer l'éther jusqu'à ce qu'on obtienne un résidu amorphe presque incolore de benzoyl aconine base.

Traiter le résidu par 0,5 cm^3 d'acide chlorydrique 0,1 N. Nous avons repris la phase aqueuse contenant l'aconine en solution et nous l'avons évaporée.

Le résidu est alors repris par du chloroforme qui dissout l'aconine et que l'on évapore à nouveau. Nous obtenons un résidu jaunâtre qui est dissous dans 0,5 cm^3 d'acide chlorydrique 0,1 N.

Sur un même papier nous plaçons successivement un échantillon de chaque alcaloïde en solution à 10 pour mille dans l'alcool à 50° et une solution d'aconine.

Voici les Rf obtenus :

aconitine	0,80
aconine	0,51
benzoylaconine	0,75
pseudoaconitine	0,76
delphinine	0,80

B) *Etude de l'hydrolyse de ces alcaloïdes.*

I) *Aconitine* (1).

« L'hydrolyse dédouble la molécule de l'aconitine et cette hydrolyse ne s'effectue pas seulement à chaud, mais commence déjà à la température ordinaire, dans ses solutions aqueuses ou alcooliques » (d'après Lebeau et Courtois) [25]. En effet, nous constatons que l'addition de soude à une solution à 10 pour mille d'aconitine dans l'alcool à 50°, nous permet déjà de constater une hydrolyse importante après 15 minutes de contact à froid.

Le chromatogramme nous donne alors trois spots : celui de l'acide benzoïque, à la partie inférieure, celui de l'alcaloïde à la partie supérieure et entre les deux, un spot médian : Rf = 0,71.

---

(1) Aconitine Merck.

A 60°, le spot de l'aconine apparaît et est facilement identifiable par son Rf = 0,51. Dès l'ébullition, le spot de l'alcaloïde disparaît, alors que se précise celui de l'aconine. Le spot 0,71 et le spot de l'acide restent constant jusqu'à la fin de l'hydrolyse.

Rf des spots obtenus en cours d'hydrolyse alcaline

Avant hydrolyse				*0,80*
Contact de 15 minutes à froid..	0,11		*0,71*	0,80
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,11	0,51	*0,71*	0,80
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,11	0,51	*0,71*	
Contact de 15 minutes à 100°..	0,11	0,51	*0,71*	
Contact d'une heure à 100°....	0,11	0,51	*0,71*	
Contact de deux heures à 100°..	0,11	0,51	*0,71*	

Discussion de ces résultats

Nous constatons l'apparition d'un dérivé non identifié dont le spot de Rf = 0,71 apparaît très nettement à l'iode entre celui de l'aconitine et de l'aconine. Au réactif d Draggendorff, il peut passer inaperçu. Nous rapprochons cette constatation de celle qui a été faite récemment par R. Paris, G. Dillemann et G. Faugeras [30]. Ils ont identifié ce composé, formé à côté de l'aconine au cours de l'hydrolyse alcaline de l'aconitine, avec l'alcaloïde principal des graines et des feuilles d'aconit. Cet alcaloïde, selon ces auteurs, diffère à la fois de l'aconitine, de la benzoylaconine et de l'aconine.

II) *Pseudo aconitine* (1).

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse			*0,76*
Contact de 15 minutes à froid..	0,17		*0,76*
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,17	0,51	*0,76*
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,17	0,51	
Contact de 15 minutes à 100°..	0,17	0,51	
Contact d'une heure à 100°....	0,17	0,51	
Contact de deux heures à 100°..	0,17	0,51	

(1) Alcaloïde obligeamment fourni par M. le Dr Raymond-Hamet.

Nous avons effectué l'hydrolyse alcaline ménagée du bromhydrate de pseudo aconitine. De même que pour l'aconitine, l'hydrolyse est rapide et dès 60° le spot de l'aconine apparaît faiblement pour se préciser à mesure que le spot supérieur disparaît. A 100° l'hydrolyse est totale. Nous n'avons pas mis en évidence de produit intermédiaire analogue à celui observé dans le cas de l'aconitine. Le spot inférieur se trouve légèrement plus haut que dans le cas de l'aconitine. Il semble qu'il s'agisse de celui de l'acide vératrique.

III) *Delphinine* (1).

Rf des spots obtenus
au cours de l'hydrolyse alcaline

Avant hydrolyse			*0,80*
Contact de 15 minutes à froid..	0,10		*0,80*
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,10	0,47	0,80
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,10	*0,47*	
Contact de 15 minutes à 100°....	0,10	*0,47*	
Contact d'une heure à 100°....	0,10	*0,47*	
Contact de deux heures à 100°..	0,10	*0,47*	

Dès l'addition de la soude, le spot inférieur apparaît, nettement plus bas que dans le cas de la pseudo aconitine. A 60° on distingue déjà, quoique assez faiblement, un spot médian de Rf = 0,47, peu différent du Rf de l'aconine Rf = 0,51, et qui correspond sans doute à la delphonine.

L'ébullition fait disparaître le spot supérieur Rf = 0,80 et s'intensifier le spot Rf = 0,47, tandis que le spot inférieur subsiste jusqu'à la fin de l'expérience.

(1) Delphinine MERCK.

CHAPITRE V

Alcaloïdes du groupe de la Vératrine.

I. -- Définition et formules des alcaloïdes de ce groupe.

La Cévadille *(Schœnocaulon officinalis)* et les Varaires *(Veratrum album* et *Veratrum viride* - Liliacées), contiennent de nombreux alcaloïdes parmi lesquels beaucoup renfermant des fonctions esters ont été étudiés dans ce travail. Ils répondent à l'union par estérification, d'une base commune, la cévine, avec des acides organiques notamment les acides vératrique et tiglique.

Cependant, des travaux récents ont montré que ce n'est pas la cévine que l'on trouve dans les alcaloïdes naturels, mais la véracévine, s'isomérisant par la suite en cévine [20].

La cévadine ou α vératrine ou vératrine cristallisée est le plus toxique des alcaloïdes de la Cévadille. A l'hydrolyse, elle donne :

cévine + acide tiglique

La vératridine ou β vératrine donne à l'hydrolyse :

cévine + acide vératrique

La vératrine officinale n'est qu'un mélange comportant principalement la cévadine et la vératridine.

La protovératrine est reconnue depuis 1953 par par Stoll et Seebeck [27], comme étant un mélange de deux alcaloïdes cristallisant de manière isomorphe, A et B, dont les points de fusion sont pratiquement les mêmes. Cheymol et Levassort (6) ont montré leur différence de constitution par hydrolyse alcaline et chromatographie sur papier.

Protovératrine A :
- une molécule de protovérine,
- deux molécules d'acide acétique,
- une molécule d'acide α méthyl butyrique,
- une molécule d'acide α hydroxy α méthyl butyrique.

Protovératrine B :
- une molécule de protovérine,
- deux molécules d'acide acétique,
- une molécule d'acide α méthyl butyrique,
- une molécule d'acide αβ dihydroxy α méthyl butyrique.

Elles se différencient donc uniquement par un hydroxyle dans la molécule de ce dernier acide et donnent toutes les deux :
- l'acide acétique,
- la protovérine, 6.000 fois moins toxique que la protovératrine,
- l'acide α méthyl butyrique :
- l'acide α hydroxy α méthyl butyrique :
- l'acide α β dihydroxy α méthyl butyrique :

II. — Exposé des résultats personnels.

A) *Détermination des* Rf *des alcaloïdes de ce groupe.*

Sur un même chromatogramme, nous avons groupé les spots de ces différents alcaloïdes pour en établir les Rf et nous y avons ajouté, à titre de comparaison, la base cévine et des alcaloïdes du même groupe, mais sans fonction ester : jervine et pseudojervine.

vératrine officinale	0,84
vératridine	0,84
cévadine	0,85
cévine	0,64

protovératrine A	0,86
protovératrine B	0,85
jervine	0,86
pseudojervine	0,86

Tous ces alcaloïdes donnent donc, en butanol acétique, des spots de Rf pratiquement identiques. Seul le spot de la cévine est nettement différent.

B) *Etude de l'hydrolyse de ces alcaloïdes.*

a) *Vératrine officinale* (1).

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse alcaline

Avant hydrolyse			*0,84*
Contact de 15 minutes à froid..	0,10	*0,64*	
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,10	*0,64*	
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,10	*0,64*	
Contact de 15 minutes à 100°..	0,10	*0,64*	
Contact d'une heure à 100°....	0,10	*0,64*	
Contact de deux heures à 100°..	0,10	*0,64*	

La vératrine base, en solution à 20 pour mille dans l'alcool à 50°, est très rapidement hydrolysée, dès l'addition de soude. En effet, sans qu'intervienne la chaleur, nous voyons que le spot supérieur a disparu pour laisser place à 2 spots nouveaux, l'un Rf = 0,64, corespondant à la base, la cévine, l'autre très bas, Rf = 0,10, qui est sans doute le spot de l'acide, ce dernier étant visible seulement à l'iode. Quel que soit le temps de chauffe, aucune modification n'apparaît ensuite.

b) *Vératridine et cévadine.*

Rf des spots obtenus en cours de l'hydrolyse alcaline de ces deux alcaloïdes

Avant hydrolyse			*0,85*
Contact de 15 minutes à froid..	0,11	0,64	*0,85*
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,11	*0,64*	*0,85*
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,11	*0,64*	

(1) Vératrine MERCK.

Contact de 15 minutes à 100°..	0,11	*0,64*
Contact d'une heure à 100°....	0,11	*0,64*
Contact de deux heures à 100°..	0,11	*0,64*

Nous constatons que ces deux alcaloïdes qui ne diffèrent entre eux que par la nature de leurs acides, ont le même Rf et nous donnent, après hydrolyse alcaline ménagée, le même chromatogramme.

On voit qu'après addition de soude, tandis que le spot de l'alcaloïde est encore visible, le spot de la cévine apparaît très faiblement et à la partie inférieure, une tache légère, visible par transparence, mais cependant très nette dont le Rf = 0,11.

Dès 60°, le spot supérieur s'estompe et le spot médian correspondant à la base se précise pour s'affirmer nettement à 100°. L'hydrolyse est alors totale.

Discussion de ces résultats

La vératrine officinale paraît plus sensible à l'hydrolyse par la soude que la vératridine et la cévadine. D'autre part, il n'est guère possible de différencier cévadine et vératridine par la seule chromatographie sur papier, du moins en butanol acétique, dans les conditions où nous avons opéré.

c) *Protovératrine A* (1).

Contrairement aux alcaloïdes précédents, les protovératrines sont fluorescentes en lumière ultra violette, et il nous a paru intéressant de comparer les résultats obtenus par révélation du chromatogramme à l'iode, au réactif de Draggendorff et aux ultra violets.

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse alcaline

Aux ultra-violets

Avant hydrolyse		0,86
Contact de 15 minutes à froid..		0,86
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,72	0,86

(1) Protovératrines A et B obligeamment fournies par le laboratoire LABATEC (Genève).

Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,24	0,36	0,51	0,72
Contact de 15 minutes à 100°..	0,24	0,36	*0,51*	0,72
Contact d'une heure à 100°....	0,24	0,36	*0,51*	0,72
Contact de deux heures à 100°..	0,24	0,36	*0,51*	0,72

A l'iode

Avant hydrolyse						*0,86*
Contact de 15 minutes à froid	0,12			0,64	*0,78*	*0,86*
Chauffage progres. jusqu'à 60°	0,12			0,64	*0,78*	0,86
Chauffage progr. jusqu'à 100°	0,12		0,36	0,64	0,78	
Contact de 15 minutes à 100°	0,12	0,24	*0,36*			
Contact d'une heure à 100°..	0,12	0,24	*0,36*			
Contact de deux heures à 100°	0,12	0,24	*0,36*			

A l'iode, on voit que l'addition de soude provoque déjà à froid une hydrolyse importante. A part le spot de l'acide, Rf = 0,12, et celui de la base, Rf = 0,64, nous trouvons deux spots étroitement accolés, mais distincts à la partie supérieure, ayant des Rf de 0,86 et 0,78. A 100°, le spot le plus haut qui correspond à celui de l'alcaloïde initial, disparait complètement et seuls restent en présence les spots de Rf = 0,78 et 0,64. Par contre, il apparaît deux nouveaux spots dans la partie médiane du chromatogramme de Rf = 0,36 et 0,24. Après 15 minutes à 100°, l'hydrolyse est pratiquement totale. Les spots supérieurs ne laissent qu'une trace légère qui s'estompe rapidement, les deux spots médians et le spot inférieur se précisent et ne subissent aucun changement jusqu'à la fin de l'expérience.

Au réactif de Draggendorff, les spots sont sensiblement identiques à ceux révélés par les vapeurs d'iode, à part le spot de l'acide, Rf = 0,12, qui n'est pas visible.

En lumière ultra-violette, on observe que les spots présentent une teinte jaune sur un fond uniformément violet. Les premier prélèvements, provenant du début

de l'hydrolyse, ont des spots à peine fluorescents et sont sensiblement identiques à ceux révélés par l'iode. Cependant le spot Rf = 0,12 n'est pas visible par fluorescence.

Après chauffage à 100°, alors que les vapeurs d'iode ne décelent plus aucun spot dans la partie supérieure du chromatogramme, les ultra-violets nous montrent un spot médian de Rf = 0,51 qui devient très brillant après 15 minutes et une heure d'ébullition. Le spot supérieur Rf = 0,86 est très légèrement fluorescent ainsi que les spots Rf = 0,24 et 0,36 décelables également par l'iode et le réactif de Draggendorff.

d) *Protovératrine B.*

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse alcaline

Aux ultra-violets

Avant hydrolyse					0,85
Contact de 15 minutes à froid..					0,85
Chauffage progressif jusqu'à 60°					0,85
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,24	0,36	0,51	0,72	
Contact de 15 minutes à 100°..	0,24	0,36	*0,51*	0,72	
Contact d'une heure à 100°....	0,24	0,36	*0,51*	0,72	
Contact de deux heures à 100°..	0,24	0,36	0,51	0,72	

A l'iode

Avant hydrolyse						*0,85*
Contact de 15 minutes à froid	0,12			0,64	*0,78*	*0,85*
Chauffage progres. jusqu'à 60°	0,12		0,36	0,64	*0,78*	0,85
Chauffage progr. jusqu'à 100°	0,12	0,24	*0,36*	0,64	0,78	
Contact de 15 minutes à 100°	0,12	*0,24*	*0,36*			
Contact d'une heure à 100°..	0,12	*0,24*	*0,36*			
Contact de deux heures à 100°	0,12	*0,24*	*0,36*			

Le chromatogramme est le même que celui de la protovératrine A, si ce n'est que l'alcaloïde migre légèrement plus bas dans le cas de la protovératrine B, et que le spot Rf = 0,36 apparaît dès 60°.

Discussion de ces résultats

L'hydrolyse des protovératrines A et B apparaît comme fort complexe. Il nous a paru difficile de déterminer avec certitude les substances auxquelles correspondent les divers spots observés, car il nous a été impossible de nous procurer les produits d'hydrolyse de référence qui auraient été nécessaires à cette identification.

Nous nous contenterons donc d'indiquer ce qui nous paraît le plus probable : les spots supérieurs semblent correspondre, à part l'alcaloïde initial, à des produits de dégradation partielle : séparation d'un, puis de deux acétyles ou des acides α méthyl ou hydroxy α méthyl-butyriques sans qu'on puisse préciser dans quel ordre se fait le départ de ces divers radicaux acyles, les spots de l'hydrolyse totale nous paraissent se rapporter à la protovérine (probablement le spot de Rf = 0,36) et aux acides organiques libérés (Rf = 0,12).

Enfin on doit signaler l'apparition d'un spot caractérisé par sa très forte fluorescence aux ultra-violets, alors qu'il ne se colore pas par l'iode, parmi les derniers dérivés d'hydrolyse. Ce spot, correspondant sans doute à un produit d'hydrolyse, ne semble pas avoir été signalé jusqu'ici.

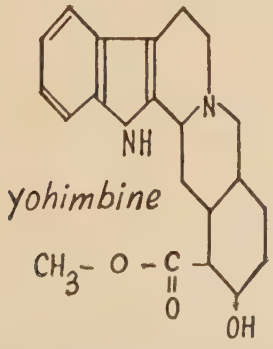
CHAPITRE VI

Groupe de la Yohimbine et des Alcaloïdes du Rauwolfia,

On trouve un groupe important d'alcaloïdes à fonction ester dans *Corynanthe Yohimba* (Rubiacées), notamment l'yohimbine et la corynanthine, et dans les *Rauwolfia* (Apocynacées), avec la réserpine, la serpentine, la raubasine, etc... Ces divers alcaloïdes appartiennent au même groupe, comportant des structures indolique et isoquinoléique. Nous avons ajouté à ce groupe dans notre étude, deux dérivés utilisés actuellement en thérapeutique, la 10 méthoxydéserpidine et le triméthoxycinnamoyl réserpate de méthyle.

A) Définition et formules des alcaloïdes de ce groupe.

La yohimbine (1) ou quebrachine est définie comme



étant l'ester méthylique de l'acide yohimbique. On la trouve non seulement dans *Corynanthe Yohimba* (Ru-

(1) Produit obligeamment fourni par les laboratoires Roques (Paris).

biacées), où elle fut isolée par SPIEGEL [42], mais aussi dans *Aspidosperma Quebracho* (Apocynacées), et même aussi dans *Rauwolfia Serpentina,* où elle fut trouvée par SIDDIQUI (1931) [41].

Par hydrolyse, elle libère de l'alcool méthylique en donnant, en milieu alcalin, le sel alcalin de l'acide yohimbique. Elle est particulièrement intéressante par sa propriété pharmacologique principale qui en fait un sympatholytique, capable d'empêcher et même d'inverser, l'action hypertensive de l'adrénaline (Raymond HAMET) [35].

La corynanthine (1), alcaloïde trouvé dans l'écorce d'une Rubiacée, *Pseudocinchona africana,* isolée par Em. PERROT [32], FOURNEAU et FIORE [13], serait un isomère de la yohimbine, l'épimère en C 16 de la yohimbone. Elle a été également isolée par HOFMANN [18] du *Rauwolfia,* sous le nom de *rauhimbine* et sa structure a été étudiée par JANOT et GOUTAREL [19].

Alcaloïdes du Rauwolfia.

Déjà isolées par les SIDDIQUI, en Inde, dès 1931, à partir de *Rauwolfia Serpentina,* la serpentine et son isomère, la serpentinine, s'ajoutent à l'ajmaline, l'ajmalicine dont les propriétés sympatholytiques ont été mises en évidence par Raymond-Hamet. La réserpine, isolée en 1952 par SCHLITTER, MUELLER et BEIN [37], est venue s'ajouter à cette liste et constitue l'alcaloïde le plus actif et le plus utilisé comme hypotenseur de longue durée et comme sédatif central, dans les états d'agitation en neuropsychiatrie.

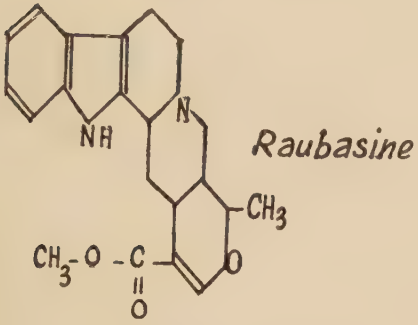
La serpentine (2) se rapproche de la yohimbine par sa structure. Elle ne comporte qu'une fonction ester méthylique. A l'hydrolyse, la serpentine donne l'acide serpentinique et l'alcool méthylique.

---

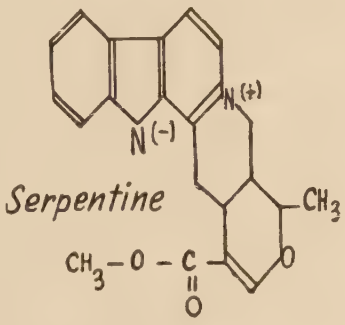
(1) Produit obligeamment fourni par les laboratoires ROQUES.

(2) Produit obligeamment fourni par le laboratoire FLUKA (Buchs, Suisse).

La raubasine (1) n'est autre que l'ajmalicine ou tétra hydroserpentine. Elle ne diffère de la serpentine que par la disparition de deux doubles liaisons dans le noyau hexagonal adjacent à l'indol.

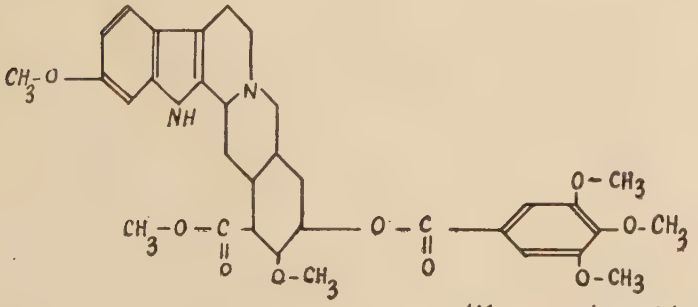


Raubasine



Serpentine

La *réserpine* (2) est la 11-méthoxy déserpidine.



11 – méthoxy- déserpidine

(réserpine)

Elle donne à l'hydrolyse alcaline : l'acide réserpique, l'acide 3-4-5 triméthoxybenzoïque et l'alcool méthylique. Elle possède donc dans sa molécule deux fonctions ester. La réserpine se conserve bien à l'état de cristaux,

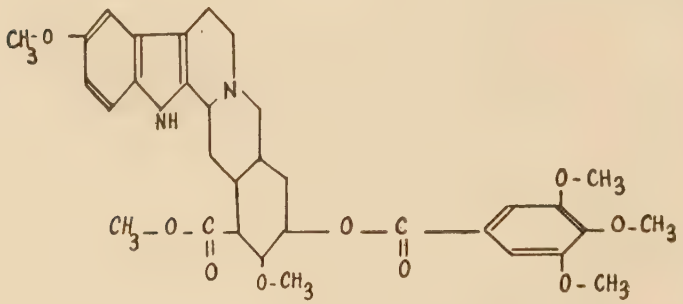
---

(1) Produit obligeamment fourni par M. le Dr RAYMOND-HAMET. Suisse).

(2) Produit obligeamment fourni par les laboratoires ROUSSEL (Paris).

mais il n'en est pas de même de ses solutions qui peuvent s'hydrolyser au niveau de la fonction ester triméthoxybenzoïque. C'est pourquoi, « en vertu de ces altérations, on doit attendre d'une méthode, qu'elle permette de caractériser la réserpine intacte, à côté de ses produits de dégradation ».

La 10 méthoxy déserpidine (1) est un produit de synthèse très proche de la réserpine. Elle n'en diffère que par la position du méthoxyle en 10 au lieu de 11. Sa synthèse a été effectuée par Velluz, Peterfalvi et Jequier [48], dans les Services de Recherche des Laboratoires Roussel.



10 - méthoxy - déserpidine

Le 3-4-5 triméthoxy cinnamoyl réserpate de méthyle (2) est aussi un produit se rapprochant de la réserpine, dont il diffère par l'estérification au moyen de l'acide triméthoxy cinnamique au lieu de l'acide triméthoxybenzoïque. Son hydrolyse donne donc : l'acide réserpique, l'acide triméthoxycinnamique et l'alcool méthylique.

B) Résultats personnels.

1° *Détermination des Rf de ces alcaloïdes.*

Sur un même chromatogramme, nous avons étudié

(1) Produit obligeamment fourni par les laboratoires Roussel.

(2) Produit obligeamment fourni par les laboratoires Servier (Orléans).

les Rf des solutions des alcaloïdes de ce groupe. Voici les résultats obtenus :

	Rf
11 méthoxydéserpidine (Réserpine)	0,80
10 méthoxydéserpidine	0,79
triméthoxycinnamoyl réserpate de méthyle	0,79
serpentine	0,70
raubasine.	0,79
corynanthine	0,65
yohimbine	0,60

2° *Etude de l'hydrolyse de ces alcaloïdes.*

Tous ces alcaloïdes sont fluorescents. Aussi avons-nous étudié les chromatogrammes par examen aux ultra-violets puis après séjour dans les vapeurs d'iode et plus accessoirement après action du réactif de Draggendorff.

a) *Yohimbine.*

	Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse en milieu alcalin	
Avant hydrolyse		0,60
Contact de 15 minutes à froid	0,10	0,60
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,10	0,60
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,10	0,60
Contact de 15 minutes à 100°.....	0,10	0,60
Contact d'une heure à 100°	0,10	0,60
Contact de deux heures à 100°	0,10	0,60

La yohimbine est nettement fluorescente. On distingue, aux ultra-violets, les spots supérieurs d'un jaune éclatant, très lumineux, superposables aux spots obtenus par l'iode. A l'iode par contre, dès l'addition de soude, un spot inférieur peu marqué apparaît de Rf 0,10 en plus du spot supérieur toujours intense de Rf 0,60.

b) *Corynanthine.*

	Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse en milieu alcalin
Avant hydrolyse	0,65

Contact de 15 minutes à froid	0,08	0,65
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,08	0,65
Chauffage progressif jusqu'à 100°.....	0,08	0,65
Contact de 15 minutes à 100°	0,08	0,65
Contact d'une heure à 100°	0,08	0,65
Contact de deux heures à 100°	0,08	0,65

Le chromatogramme est très peu différent de celui de la yohimbine, ainsi que son comportement aux ultra-violets. Dès l'addition de soude, l'hydrolyse paraît totale et nous trouvons le spot inférieur peu intense, Rf 0,08, et le spot supérieur, Rf 0,65, très coloré à l'iode.

c) *Serpentine.*

Soumis à l'action conjuguée de la chaleur et de la soude, pendant deux heures, cet alcaloïde ne s'est pas hydrolysé. L'alcaloïde pur donne déjà deux spots, l'un de Rf 0,70, l'autre de Rf 0,20 se présentant à l'iode comme une tache incolore, se détachant sur un fond légèrement bruni. Il est difficile de se prononcer sur la valeur de ce spot « négatif ».

d) *Raubasine.*

Ce produit s'hydrolyse peu. Il semble que le spot initial serait, après action de la soude, légèrement plus bas. Après une heure d'ébullition, apparaît un spot inférieur très faiblement coloré à l'iode, de Rf 0,14, alors que le spot supérieur semble diminuer d'intensité.

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse		0,75
Contact de 15 minutes à froid		0,75
Chauffage progressif jusqu'à 60°		0,75
Chauffage progressif jusqu'à 100°		0,75
Contact de 15 minutes à 100°		0,75
Contact d'une heure à 100°	0,14	0,75
Contact de deux heures à 100°	0,14	0,75

e) *Réserpine.*

L'hydrolyse est pour cet alcaloïde, beaucoup plus rapide.

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse en milieu alcalin

Iode

Avant hydrolyse			0,80
Contact de 15 minutes à froid.....	0,12		0,80
Chauffage progressif jusqu'à 60°..	0,12		0,80
Chauffage progressif jusqu'à 100°..	0,12		0,80
Contact de 15 minutes à 100°.....	0,12	0,45	0,80
Contact d'une heure à 100°.....	0,12	0,45	0,80
Contact de deux heures à 100°....	0,12	0,45	0,80

Ultra-violets

Avant hydrolyse			0,80
Contact de 15 minutes à froid....			0,80
Chauffage progressif jusqu'à 60° ..	0,35		0,80
Chauffage progressif jusqu'à 100°..	0,35		0,80
Contact de 15 minutes à 100°.....	0,35	0,45	0,80
Contact d'une heure à 100°	0,35	0,45	0,80
Contact de deux heures à 100°....	0,35	0,45	0,80

A l'iode, le chromatogramme obtenu sur le prélèvement fait aussitôt après l'addition de soude, à froid, laisse apparaître à la partie inférieure, une tache blanche, non colorée par l'iode, par rapport à l'ensemble du papier légèrement teinté, et surmontée d'une zone brune. Considérée comme un spot négatif, cette tache aurait un Rf de 0,12. Naturellement on voit aussi le spot de l'alcaloïde très intense à son Rf de 0,80.

Il faut chauffer à la température d'ébullition pendant 15 minutes pour que l'hydrolyse soit totale et nous voyons alors apparaître un spot médian de Rf 0,45, qui coexiste alors avec le spot supérieur jusqu'à la fin des deux heures d'hydrolyse.

Aux ultra-violets, le spot inférieur, signalé en négatif à l'iode, n'apparaît pas. Le spot supérieur est d'un vert lumineux et diminue d'intensité progressivement à mesure que les spots intermédiaires se montrent, dans les trois derniers prélèvements, qui sont alors très blancs et plus brillants.

Dans le produit d'hydrolyse obtenu dès la température de 60°, un spot bien rond mais peu brillant, se devine. Il a un Rf de 0,35 et nous le retrouvons jusqu'à la fin de l'expérience.

A 100°, on constate que le spot supérieur devient moins brillant et s'étire jusqu'à se séparer après 15 minutes à 100°, en deux spots bien distincts, le spot supérieur (0,80) et un spot médian (0,45).

Discussion de ces résultats

Ces deux méthodes d'examen montrent d'une façon plus ou moins accusée, mais toujours très nette, le spot supérieur Rf 0,80, et le spot médian à 0,45.

Par contre, l'iode met en évidence un spot plus bas, très faible, que les ultra-violets ne nous montrent pas, alors qu'inversement, ils décèlent un spot légèrement plus haut, invisible à l'iode.

f) *10 méthoxydéserpidine.*

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse en milieu alcalin

Iode

Avant hydrolyse			0,78
Contact de 15 minutes à froid....	0,09		0,78
Chauffage progressif jusqu'à 60°..	0,09		0,78
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,09	0,48	0,78
Contact de 15 minutes à 100°.....	0,09	0,48	0,78
Contact d'une heure à 100°.....	0,09	0,48	0,78
Contact de deux heures à 100°....	0,09	0,48	0,78

Ultra-violets

Avant hydrolyse			0,78
Contact de 15 minutes à froid.....			0,78
Chauffage progressif jusqu'à 60°..	0,32		0,78
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,32	0,48	0,78
Contact de 15 minutes à 100°	0,32	0,48	0,78
Contact d'une heure à 100°.....	0,32	0,48	0,78
Contact de deux heures à 100°....	0,32	0,48	0,78

Le chromatogramme est ici très peu différent de celui de la réserpine. C'est également un produit rela-

tivement stable et l'hydrolyse n'est totale qu'après 15 minutes à 100°.

A l'iode, nous retrouvons la tache « négative » surmontant le spot inférieur et visible surtout par transparence. Dès l'ébullition, le spot médian apparaît faiblement encore, pour se préciser à mesure que le temps de chauffe augmente et que le spot supérieur disparaît.

Aux ultra-violets, le spot médian devient éclatant dans les derniers prélèvements à mesure que le spot supérieur pâlit et que le spot Rf 0,32 devient à peine perceptible.

g) *3, 4, 5 triméthoxycinnamoyl réserpate de méthyle.*

Examiné aux ultra-violets ou après l'action des vapeurs d'iode, le chromatogramme est le même que celui des alcaloïdes précédents.

C) Commentaires.

On peut distinguer dans ces résultats deux groupes : l'un comprenant les alcaloïdes qui possèdent seulement le noyau pentacyclique (yohimbine, corynanthine, serpentine, raubasine) et l'autre ceux dans lesquels se trouve en plus l'acide triméthoxybenzoïque ou triméthoxycinnamique (réserpine, 10 méthoxy déserpidine et 3, 4, 5 triméthoxycinnamoyl réserpate de méthyle).

Ceux du premier groupe donnent un chromatogramme très simple au cours de leur hydrolyse, avec, seulement décelable par l'iode, le spot de l'alcaloïde auquel vient s'ajouter un spot très bas.

L'hydrolyse provoquant seulement l'élimination de l'alcool méthylique, il est probable que le reste de la molécule (acide yohimbique) restant, de structure presque identique à l'alcaloïde primitif, donne un spot de Rf très voisin, qui ne permet pas de le différencier, au moins selon les modalités de notre technique.

Les alcaloïdes de l'autre groupe contenant dans leur molécule l'acide triméthoxybenzoïque ou triméthoxycinnamique, donnent un chromatogramme plus

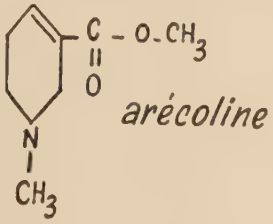
compliqué au cours de l'hydrolyse, un composé intermédiaire (Rf 0,45 - 0,48) apparaît dès l'ébullition et son spot devient de plus en plus intense, à mesure que l'expérience se poursuit. Enfin, la constatation d'un spot de Rf 0,35, visible aux ultra-violets et non à l'iode, pose la question d'un dérivé non alcaloïdique mais fluorescent. Des références obtenues sur des produits intermédiaires, connus et purifiés, seraient nécessaires pour en préciser la nature.

CHAPITRE VII

ALCALOIDES DIVERS

ARÉCOLINE

L'arécoline ou méthyl arécaïdine se trouve dans la noix d'Arec, *Areca Catechu* (Palmiers).



arécoline

Nous avons utilisé le bromhydrate d'arécoline (1) en solution à 20 pour mille dans l'éthanol. La chromatographie en butanol acétique donne dans les mêmes conditions d'expérience :

— pour le bromhydrate d'arécoline : Rf = 0,41;
— pour le bromhydrate d'arécaïdine : Rf = 0,28.

Etude de l'hydrolyse.

Rf des spots obtenus en cours d'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse			0,41	
Contact de 15 minutes à froid..	0,17	0,28	0,41	*0,59*
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,17	0,28	0,41	*0,59*
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,17	0,28	0,41	*0,59*
Contact de 15 minutes à 100°..	0,17	0,28	0,41	*0,59*

(1) Alcaloïde obligeamment fourni par les laboratoires ROQUES (Paris).

Contact d'une heure à 100°.... 0,17 0,28 0,41 *0,59*
Contact de deux heures à 100°.. 0,17 0,28 0,41 *0,59*

Dans la solution obtenue dès l'addition de soude nous avons observé quatre spots et l'action de la chaleur va progressivement augmenter l'hydrolyse déjà importante à froid.

Nous constatons :

— que le spot de l'alcaloïde diminue d'intensité à mesure que l'hydrolyse progresse;

— que le spot de l'arécaïdine (Rf = 0,28), au contraire, devient de plus en plus intense au fur et à mesure que le précédent s'estompe.

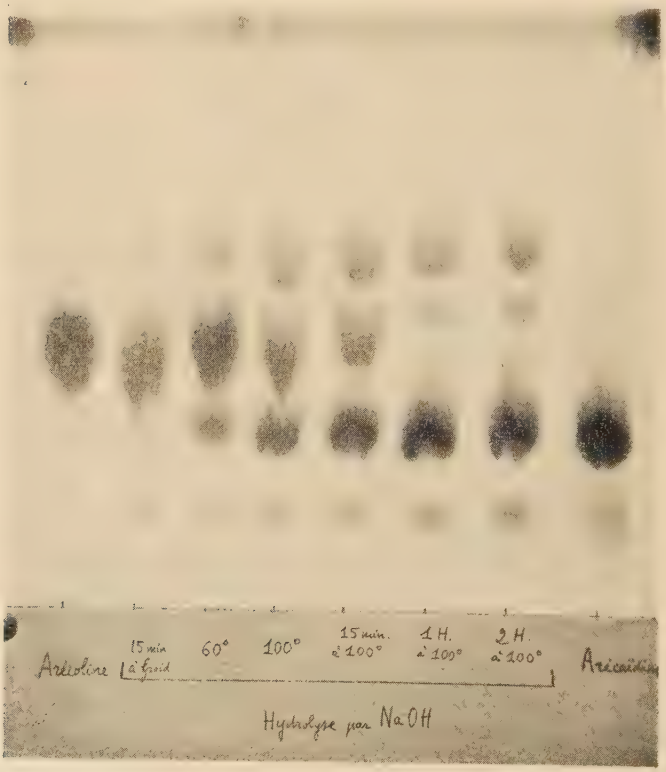


FIGURE 3. — Hydrolyse de l'arécoline. Chromatographie en butanol-acétique. Révélation à l'iode. A droite, l'arécaïdine a été ajoutée à titre de référence.

— que le spot inférieur (Rf = 0,17) n'est décelable que par les vapeurs d'iode. Par contre, il apparaît un spot, Rf = 0,59, dès l'addition de soude, qui se précise lors de l'action de la chaleur et se maintient jusqu'à la fin de l'expérience.

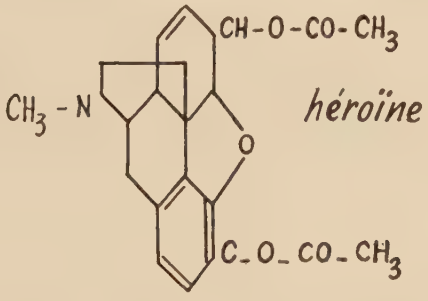
Avec le réactif de Draggendorff, le spot Rf = 0,59, et celui de l'alcaloïde prennent une teinte pourpre violacée très nette, dont l'intensité décroît à mesure que l'expérience progresse. Par contre le spot de l'arécaïdine (Rf = 0,28) est orangé.

Commentaires.

L'hydrolyse de l'arécoline fait donc apparaître deux spots en plus de celui qui répond au Rf de l'arécaïdine. Il est probable que le spot inférieur répond au méthanol. Le spot supérieur, Rf = 0,59, décelable par le réactif de Draggendorff, donc de nature alcaloïdique, semble être un dérivé qui ne paraît pas avoir été décrit. Des recherches complémentaires sont nécessaires pour l'identifier.

HEROINE

L'héroïne ou diacétyl morphine est un dérivé artificiel de la morphine. Elles correspond à la formule :



héroïne

A l'hydrolyse, l'héroïne libère de la morphine et de l'acide acétique avec la possibilité d'un dérivé intermédiaire, la monoacétylmorphine, par hydrolyse partielle.

Etude de l'hydrolyse.

Nous avons opéré sur le sel commercial habituel : le chlorhydrate d'héroïne. Les Rf obtenus dans les mêmes conditions d'expérience, sont :

— héroïne : Rf = 0,68.

— morphine : Rf = 0,46.

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse			0,68
Contact de 15 minutes à froid ..	0,11	0,46	
Chauffage progressif jusqu'à 60°.	0,11	0,46	
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,11	0,46	
Contact de 15 minutes à 100°....	0,11	0,46	
Contact d'une heure à 100°	0,11	0,46	

(1) Alcaloïde obligeamment fourni par les laboratoires ROQUES.

Contact de deux heures à 100°.. 0,11 0,46

Dès l'addition de soude, le spot de la morphine apparaît par l'exposition aux vapeurs d'iode, ainsi qu'un léger spot inférieur de Rf = 0,11, qui semble surmonté d'un croissant très faiblement marqué. L'hydrolyse est totale à froid, et la chaleur ne modifie pas le chromatogramme.

Avec le réactif de Draggendorff, le spot inférieur n'est pas visible.

L'hydrolyse de l'héroïne est donc immédiate dès l'addition de soude à froid. Le spot de Rf = 0,46 correspond à la morphine, celui de Rf = 0,11 non décelable au réactif de Draggendorff, répond sans doute à l'acide acétique.

CASSAINE

La cassaïne (1) est un alcaloïde isolé de l'écorce d'*Erytrophleum Guineense,* grand arbre de la famille des Légumineuses. Au point de vue pharmacodynamique, ses propriétés sont de type digitalique.

L'hydrolyse alcaline donne un acide, l'acide allo cassaïnique, hydroxy cétonique tricyclique, d'origine diterpénique et une base, le β diméthylamino éthanol d'après LEBEAU et COURTOIS).

Etude de l'hydrolyse.

Nous avons effectué l'hydrolyse alcaline ménagée d'une solution de cassaïne à 20 pour mille.

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse en milieu alcalin

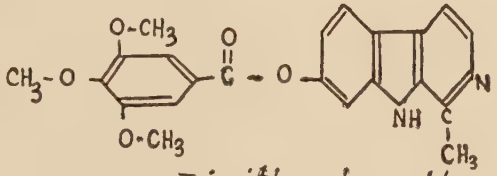
Avant hydrolyse		0,76
Contact de 15 minutes à froid		0,76
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,27	0,76
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,27	0,76
Contact de 15 minutes à 100°	0,27	0,76
Contact d'une heure à 100°	0,27	
Contact de deux heures à 100°	0,27	

Nous constatons que la soude seule à froid ne paraît pas avoir d'action, mais dès 60°, nous voyons apparaître un spot inférieur de Rf = 0,27 très faiblement marqué à l'iode, alors que le spot supérieur devient de plus en plus flou. A l'ébullition, le spot inférieur se précise au détriment du spot supérieur qui après une heure d'ébullition a complètement disparu.

(1) Alcaloïde obligeamment fourni par les laboratoires LABATEC (Genève).

TRIMÉTHOXY - BENZOYL HARMOL.

Nous avons jugé intéressant d'ajouter à notre étude, l'hydrolyse du triméthoxy benzoyl harmol, dérivé synthétique résultant de l'estérification de l'harmol (dérivé de l'harmine de *Peganum Harmala*), par l'acide triméthoxy benzoïque.



Triméthoxy benzoyl harmol

Etude de l'hydrolyse.

Rf des spots obtenus au cours de l'hydrolyse en milieu alcalin

Avant hydrolyse			0,74
Contact de 15 minutes à froid....	0,07	0,13	0,62
Chauffage progressif jusqu'à 60°	0,07	0,13	0,62
Chauffage progressif jusqu'à 100°	0,07	0,13	0,62
Contact de 15 minutes à 100°....	0,07	0,13	0,62
Contact d'une heure à 100°....	0,07	0,13	0,62
Contact de deux heures à 100°..	0,07	0,13	0,62

Cet ester s'hydrolyse rapidement et presque totalement dès l'addition de soude, sans que la chaleur semble avoir d'action supplémentaire. On obtient deux spots principaux, fortement colorés par l'iode : le premier, de Rf = 0,74, est celui de l'alcaloïde ester, le deuxième, de Rf = 0,62 est celui du produit d'hydrolyse (harmol) et son intensité augmente avec le temps

(1) Alcaloïde obligeamment fourni par les laboratoires LABATEC (Genève).

d'hydrolyse. Enfin on note la présence de deux spots inférieurs très peu marqués et vus surtout par transparence après séjour du chromatogramme dans les vapeurs d'iode.

CHAPITRE VIII

Applications pratiques

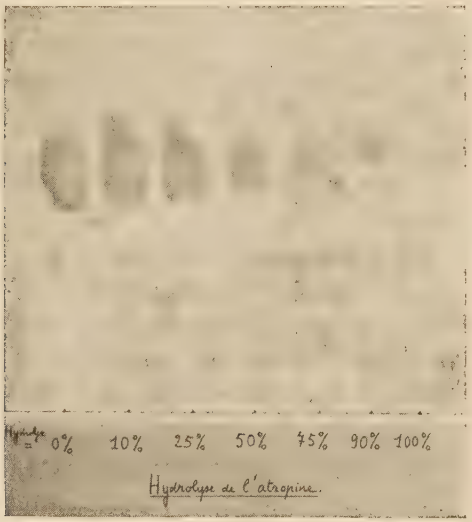
En plus de son intérêt pour l'identification des divers alcaloïdes par leur Rf caractéristique, la chromatographie sur papier a un intérêt particulier pour déceler leurs altérations par hydrolyse, lorsqu'il s'agit d'alcaloïdes-esters en solution. Aussi les applications pratiques de cette technique résident-elles principalement dans le contrôle de l'intégrité des solutions de ces alcaloïdes.

L'étude des solutions d'atropine, par chromatographie sur papier nous montre qu'on peut facilement affirmer, sur la seule constatation d'un spot de Rf bas, en même temps que celui de l'alcaloïde lui-même, la présence de tropanol et par conséquent, l'altération de la solution.

Il est à remarquer, cependant, que si la révélation des spots est faite au réactif de Draggendorff, la tache correspondant au tropanol, facile à distinguer par sa teinte mauve, est, pour une même concentration, proportionnellement moins intense que celle de l'alcaloïde en solution, et dans ces conditions, une légère hydrolyse, n'apportant qu'une faible quantité de tropanol, peut n'être pas décelable par une telle méthode. Il est alors préférable d'utiliser la méthode de révélation aux vapeurs d'iode, plus sensible.

Il nous a paru intéressant de déterminer le minimum d'hydrolyse décelable par cette technique, nous avons effectué quelques essais systématiques sur des mélanges d'atropine, tropanol et acide tropique, en proportions calculées pour correspondre à des taux

d'hydrolyse de l'atropine respectivement de 0, 10, 25, 50, 75, 90 et 100 pour cent. On peut alors observer que si on opère sur des prises d'essai plus fortes que celles indiquées plus haut (30 mm^3), une hydrolyse de 10 % peut déjà être décelable par l'apparition d'une minime tache de tropanol, ainsi qu'on peut le voir sur la reproduction ci-après, se rapportant à un essai avec révélation au réactif de Draggendorff. L'iode pourrait certainement donner une sensibilité plus grande à cette recherche.



Il est évident que la même application peut avoir pour objet d'autres alcaloïdes usuels : cocaïne, héroïne, aconitine, etc...

La méthode de chromatographie sur papier peut aussi en pratique, être utile pour étudier par hydrolyse alcaline ménagée la formation de dérivés intermédiaires parfois insoupçonnés et dont la fugacité avait empêché de saisir la présence. Nous avons signalé l'apparition d'un dérivé très fortement fluorescent aux ultra-violets parmi les dérivés d'hydrolyse des protovératrines et même l'hydrolyse de l'arécoline, qui est

pourtant une molécule d'une grande simplicité, pose des problèmes nouveaux. L'hydrolyse de l'aconitine donne lieu à un dérivé intermédiaire déjà signalé. L'atropine, enfin, nous a permis de déceler la formation d'apoatropine comme intermédiaire au cours de l'hydrolyse. Dans tous les cas, la chromatographie sur papier peut ouvrir bien des perspectives nouvelles et des sujets de recherches.

CONCLUSIONS

Nous avons utilisé la chromatographie sur papier, ascendante, en phase butanol acétique, pour l'étude de l'hydrolyse de divers alcaloïdes-esters : atropine, hyosciamine, scopolamine et leur génalcaloïdes, cocaïne, benzoylaconine, delcaïne, aconitine, delphinine ,vératrine cévadine, protovératrines, yohimbine et corynanthine, serpentine, raubasine, réserpine, arécoline, cassaïne et quelques alcaloïdes esters de synthèse (héroïne, homatropine, etc...).

Outre son intérêt pour l'identification de ces alcaloïdes par leurs Rf caractéristiques, cette méthode permet des constatations utiles lorsqu'on étudie les diverses phases de leur hydrolyse alcaline, ménagée et progressive.

Ainsi, nous avons observé, au cours de l'hydrolyse de l'atropine la formation d'un dérivé intermédiaire dont le Rf indique qu'il s'agit très probablement de l'apoatropine. Un dérivé analogue se forme dans le cas de l'hyosciamine et de la scopolamine.

L'aconitine donne lieu aussi à la formation d'un dérivé intermédiaire. Dans quelques cas, hydrolyse des protovératrines, de la réserpine et même de l'arécoline, on constate de multiples spots au cours de l'hydrolyse et des problèmes complexes sont ainsi soulevés, qui nécessitent des études plus approfondies dépassant le cadre de cette thèse, pour en faire l'identification précise. Poser des problèmes nouveaux n'est peut-être pas le moindre intérêt des quelques constatations originales faites dans cette étude.

Enfin nous devons insister sur l'intérêt pratique de la méthode de chromatographie sur papier dans

l'essai pharmaceutique et le contrôle des alcaloïdes-esters et de leurs solutions.

Cette méthode, simple dans sa réalisation, et à la portée de tout laboratoire, même modeste, permet de dépister aisément l'hydrolyse même très partielle, des solutions d'alcaloïdes esters, telles celles d'atropine, de cocaïne, d'aconitine ou d'héroïne, par la présence, en plus du spot caractéristique de l'alcaloïde, de celui de son produit d'hydrolyse principal dont le Rf est alors tout différent. Elle peut donc compléter utilement les méthodes classiques d'essai de ces divers médicaments et même parfois se substituer à certaines d'entre elles souvent longues et délicates pour les essais systématiques dans la pratique courante. En ce domaine comme dans d'autres, son application et ses perfectionnements iront certainement en grandissant dans les années à venir.

BIBLIOGRAPHIE

1. Barton (D. H. R.), Jeger (O.), Prelog (V.) et Woodward (R.). — *Experientia*, 1954, *10*, 81.
2. Brauniger (H.). — *Pharmazie*, 1954, *9*, 643.
3. Buchi (J.) et Schumacher (H.). — *Festschrift Arthur Stoll*, Basel 1957, 202.
4. Buchi (J.) et Schumacher (H.). — *Pharm. Acta Helvetiae*, 1957, *32*, 194, 273, 375, 442, 462.
5. Carless (J. E.) et Woodhead (H. B.). — *Nature*, 1951, *168*, 203.
6. Cheymol (J.) et Mlle Levassort (C.). — *Ann. Pharm. fr.*, 1956, *14*, 783.
7. Consden (R.), Gordon (A. H.) et Martin (A. J.). — *Biochem. Jour.*, 1944, *38*, 224.
8. Dencel (A.), Jaminet (F.), Philippot (E.) et Dallemagne (M.). — *Arch. inter. physio.*, 1951, *59*, 341.
9. Dorier (C.), Dauphin (J.), Redon (J.) et Berger (J.). — *Bull. Soc. Chim. de France*, 1959, 620.
10. Faltis (F.) et Holzinger (L.). — *Ber*, 1939, *72*, 1443.
11. Foster (G.), Macdonald (J.) et Jones (T.). — *J. Pharm. and Pharmacol.*, 1949, *1*, 802.
12. Fourneau (E.). — *C. R. Ac. Sc.*, 1909, *148*, 1770 ; 1910, *150*, 977. — *B. S. P.*, 1910, *17*, 190.
13. Fourneau (E.) et Fiore. — *B. S. C.*, 1911, *9*, 1037.
14. Freund (M.) et Beck (P.). — *Ber*, 1894, *27*, 433 et 720 ; 1895, *28*, 192.
15. Gadamer (J.). — *Archiv der pharm.*, 1901, *239*, 301.
16. Golse (J.). — « Précis de matière médicale », Doin éd., 1955.
17. Hardy (P.). — *Jour. Pharm. et Chimie*, 1922, *26*, 220. — Thèse Doct. Pharmacie, Paris, 1922.
18. Hofmann (A.). — *Helv. Chim. Acta*, 1954, *37*, 849.
19. Janot (M. M.) et Goutarel (R.). — *C. R. Ac. Sc.*, 1944, *218*, 852.
20. Kupchan (S. M.), Lavie (D.), Deliwala (C. V.) t Ando (B. Y. A.). — *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, *75*, 5519.
21. Lebeau (P.) et Courtois (G.). — « Traité de pharmacie chimique », Masson éd., 1956.
22. Lederer (E.) et Lederer (M.). — *Chromatography*, 2e édition, Elsevier Publi Co, 1957.
23. Lederer (E.). — *Bull. Soc. Chim. de France*, 1952, *19*, 815.
24. Majima (R.), Suginome (H.) et Morio (S.). — *Ber.*, 1924, *57*, 1456.
25. Malangeau (P.). — *Produits pharmaceutiques*, 1957, *12*, 117.
26. Martin (A. J.). — *Ann. Rev. Biochem.*, 1950, *19*, 517.

27. MATHIS (C.) et DUQUENOIS (P.). — *Ann. Pharm. françaises*, 1956, *14*, 749.
28. MUNIER (R.). — *Bull. Soc. Chim. de France*, 1952, *19*, 852 ; *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1953, *35*, 1225.
29. MUNIER (R.) et MACHEBŒUF (M.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1949, *31*, 1144 ; 1950, *32*, 192 ; 1951, *33*, 846.
30. PARIS (R.), DILLEMANN (G.), FAUGERAS (G.). — *Ann. Pharm. fr.*, 1959, *7*, 188.
31. PARIS (R.) et VIEJO (J. P.). — *Ann. Pharm. fr.*, 1955, *13*, 425.
32. PERROT (E.). *C. R. Ac. Sc.*, 1909, *148*, 1465 ; *B. S. P.*, 1910, *17*, 187.
33. PLANCHON (L.), BRETIN (P.) et MANCEAU (P.). — « Précis de matière médicale ». Maloine éd.
34. POLONOVSKI (M.) et NITZBERG (C.). — *B. S. C.*, 1915, *17*, 244. — *B. S. P.*, 1916, *23*, 321 ; 1918, *25*, 129.
35. RAYMOND HAMET. — *C. R. Ac. Sc.*, 1933, *197*, 800.
36. RESPLANDY (A.). — *C. R. Ac. Sc.*, 1954, *238*, 2527.
37. SCHLITTER (E.), MUELLER (J. M.), BEIN (H. J.). — *Experientia*, 1952, *8*, 338.
38. SCHMID (R.) et KARRER (P.). — *Helv. Chim. Acta*, 1950, *33*, 512.
39. SCHMID (R.), KEBRLE (J.) et KARRER (P.). — *Helv. Chim. Acta*, 1952, *35*, 1864.
40. SERVIER (J.). — « Contribution à l'étude du Rauwolfia Serpentina ». Lille, 1957, Thèse Doct. Pharmacie.
41. SIDDIQUI (S.) et SIDDIQUI (P.). — *J. Indian Chem. Soc.*, 1931, *8*, 667.
42. SPIEGEL. — *Chim. Zeit*, 1896, *20*, 970.
43. STEIGER (M.) and REICHSTEIN. — *Helv. Chim. Acta*, 1938, *21*, 546.
44. STOLL (A.) et RUEGGER (A.). — *Helv. Chim. Acta*, 1954, *37*, 1725.
45. STOLL (A.) et SEEBECK (E.). — *Helv. Chim. Acta*, 1953, *36*, 718.
46. TSWETT (M.). — *Trav. Soc. Nat. Varsovie*, 1903, *14*. — *Ber. dtsch. botances*, 1906, *24*, 316. — *Biochem. Z.*, 1907, *5*, 6.
47. VAN ESPEN (J.). — *Journ. Pharm. Belg.*, 1950, *5*, 130.
48. VELLUZ (L.), PETERFALVI (M.) et JEQUIER (R.). — *C. R. Ac. Sc.*, 1958, *247*, 1905.
49. VINCENT (D.), SEGONZAC (G.) et SESQUE (G.). — *Ann. Pharm. fr.*, 1959, *17*, 241.
50. WALDI (D.). — *Arch. Pharmazie*, 1959, 292, 64, 206.
51. WOODSON (R. E.), YOUNGKEN (H. W.), SCHLITTLER (E.), SCHNEIDER (J. A.). — « Rauwolfia, botany, pharmacognosy, chemistry and pharmacology ».
52. WRIGHT (C. R. A.). — *J. Chem. Soc.*, 1878, *33*, 151.

Le Président de Thèse :
D. VINCENT.

Vu : *le Doyen,*
G. LAZORTHES.

Vu et permis d'imprimer :
Toulouse, le 3 juin 1960.

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université :
P. DOTTIN.